Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук
Новосибирский национальный исследовательский государственный университет

Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences
Novosibirsk State University

PlantGen2025

ГЕНЕТИКА, ГЕНОМИКА, БИОИНФОРМАТИКА И БИОТЕХНОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

8-я Международная научная конференция
2–5 июля 2025, ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия

PLANT GENETICS, GENOMICS, BIOINFORMATICS AND BIOTECHNOLOGY

8th International Scientific Conference
July 2–5, 2025, ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia

Тезисы докладов
Abstracts

ФЕНОМИКА
ГЕНЕРАЛЬНЫЙ СПОНСОР

Г34

Генетика, геномика, биоинформатика и биотехнология растений (PlantGen2025): 8-я Международная научная конференция (2–5 июля 2025 г., Новосибирск): тезисы докладов / Федер. исслед. центр Ин-т цитологии и генетики Сиб. отделения Рос. академии наук; Новосибирский нац. исслед. гос. ун-т. Новосибирск: ИЦиГ СО РАН, 2025. 314 с. doi 10.18699/PlantGen2025-Abstracts. ISBN 978-5-91291-072-2

Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics and Biotechnology: 8th International Scientific Conference (July 2–5, 2025, Novosibirsk): Abstracts / Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; Novosibirsk State University. Novosibirsk: ICG SB RAS, 2025. 314 p. doi 10.18699/PlantGen2025-Abstracts. ISBN 978-5-91291-072-2

Организаторы / Organizers

Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук (ИЦиГ СО РАН)
Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (ICG SB RAS)

Новосибирский национальный исследовательский государственный университет (НГУ)
Novosibirsk State University (NSU)

Курчатовский геномный центр ИЦиГ СО РАН, проект № 075-15-2025-516
Kurchatov Genomic Center of ICG SB RAS, grant No. 075-15-2025-516

Межрегиональная общественная организация
Вавиловское общество генетиков и селекционеров (МОО ВОГиС)
The Vavilov Society of Geneticists and Breeders (VSGB)

Новосибирская областная общественная организация
Вавиловское общество генетиков и селекционеров (НООО ВОГиС)
The Vavilov Society of Geneticists and Breeders (Novosibirsk Branch)

Организационный комитет

сотрудники ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия

Сопредседатели

Салина Елена Артемовна, чл.-кор. РАН, д.б.н., проф., г.н.с.,
руководитель отдела молекулярной генетики растений
Зубова Светлана Васильевна, руководитель сектора

Члены Организационного комитета

Батухтин Георгий Валерьевич, редактор
Иванов Роман Артемович, м.н.с., программист
Игнатьева Ольга Валерьевна, юрисконсульт
Калачикова Светлана Викторовна, инженер I категории
Карамышева Татьяна Витальевна, к.б.н., с.н.с.
Киселёва Антонина Андреевна, к.б.н., с.н.с.
Коваль Василий Сергеевич, к.б.н., ведущий специалист
Линкевич Павел Евгеньевич, вед. инженер-программист
Смирнова Ольга Григорьевна, к.б.н., с.н.с.
Токпанов Ерлан Аскарович, начальник отдела
Харкевич Андрей Владимирович, ведущий специалист
Чалкова Татьяна Федоровна, начальник отдела
Черкавский Андрей Дмитриевич, программист

Organizing Committee

employees of ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia

Co-Chairs

Elena Salina, Corr. Member of the RAS, Dr. Sci., Prof.,
Head of the Plant Molecular Genetics Department
Svetlana Zubova, Head of Department

Members of the Organizing Committee

Georgy Batukhtin, Editor
Tatiana Chalkova, Head of Department
Andrey Cherkavsky, Programmer
Olga Ignatyeva, Legal Adviser
Roman Ivanov, Young Researcher, Programmer
Svetlana Kalachikova, 1st category Engineer
Tatiana Karamysheva, Ph.D., Senior Researcher
Andrey Kharkevich, Senior Specialist
Antonina Kiseleva, Ph.D., Senior Researcher
Vasily Koval, Ph.D., Senior Specialist
Pavel Linkevich, Chief Programme Engineer
Olga Smirnova, Ph.D., Senior Researcher
Erlan Tokpanov, Head of Department

Контакты / Contacts

Электронная почта / Email: PlantGen2025@bionet.nsc.ru; сайт конференции / Website of Conference: conf.icgbio.ru/plantgen2025/
Адрес: 630090, Новосибирск, проспект Академика Лаврентьева, 10 / Address: Prospekt Lavrentyeva 10, Novosibirsk, 630090, Russia
Тел. / Phone: +7(383) 363 4977, факс / Fax: +7(383) 333 1278; сайт ИЦиГ СО РАН / Website of ICG SB RAS: icgbio.ru

ISBN 978-5-91291-072-2

© Коллектив авторов, 2025
© ИЦиГ СО РАН, 2025

Программный комитет

Сопредседатели

Кочетов Алексей Владимирович, академик РАН, д.б.н., профессор РАН, директор, ФИЦ ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия

Салина Елена Артемовна, чл.-кор. РАН, д.б.н., профессор, руководитель отдела молекулярной генетики растений, ФИЦ ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия

Члены Программного комитета

Афанасенко Ольга Сильвестровна, академик РАН, д.б.н., зав. лабораторией, ВИЗР, Санкт-Петербург, Россия

Афонников Дмитрий Аркадьевич, д.б.н., доцент, в.н.с., ФИЦ ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия

Беспалова Людмила Андреевна, академик РАН, д.с.-х.н., зав. отделом, ФГБНУ «Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко», Краснодар, Россия

Гавриленко Татьяна Андреевна, д.б.н., г.н.с., зав. отделом, Всероссийский институт растениеводства им. Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург, Россия

Гончаров Николай Петрович, академик РАН, д.б.н., г.н.с., ФИЦ ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия

Горшкова Татьяна Анатольевна, д.б.н., профессор, зав. лабораторией, КИББ КазНЦ РАН, Казань, Россия

Карлов Геннадий Ильич, академик РАН, д.б.н., профессор, директор, ФГБНУ ВНИИСБ, Москва, Россия

Колчанов Николай Александрович, академик РАН, д.б.н., научный руководитель, ФИЦ ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия

Корзун Виктор Николаевич, почетный доктор, ведущий руководитель по научным вопросам в Европе, KWS SAAT SE & Co. KGaA, Айнбек, Германия

Косолапов Владимир Михайлович, академик РАН, д.с.-х.н., профессор, научный руководитель ФНЦ «ВИК им. В.Р. Вильямса», Лобня, Россия

Кочиева Елена Зауровна, д.б.н., профессор, г.н.с., ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Россия

Крутовский Константин Валерьевич, Гёттингенский университет, Гёттинген, Германия; к.б.н., в.н.с., ИОГен, Москва, Россия

Леонова Ирина Николаевна, д.б.н., в.н.с., ФИЦ ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия

Лутова Людмила Алексеевна, д.б.н., профессор, заместитель декана, СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия

Митрофанова Ирина Вячеславовна, чл.-кор. РАН, д.б.н., г.н.с., зав. научно-исследовательским отделом, Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН, Москва, Россия

Моргунов Алексей Иванович, к.с.-х.н., преподаватель, Казахский национальный университет им. Аль Фараби, Алматы, Республика Казахстан

Партоев Курбонали, д.с.-х.н., профессор, зав. лабораторией, Институт ботаники, физиологии и генетики растений Национальной академии наук Таджикистана, Душанбе, Республика Таджикистан

Пономарева Мира Леонидовна, д.б.н., профессор, г.н.с., ТатНИИСХ ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия

Потокина Елена Кирилловна, д.б.н., профессор, Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия

Прянишников Александр Иванович, чл.-кор. РАН, д.с.-х.н., профессор РАН, директор Департамента, АО «Щелково Агрохим», Москва, Россия

Туруспеков Ерлан Кенесбекович, академик НАН РК при Президенте Республики Казахстан, к.б.н., профессор, зав. лабораторией, Институт биологии и биотехнологии растений, Алматы, Республика Казахстан

Федорук Михаил Петрович, чл.-кор. РАН, д.ф.-м.н., профессор, ректор, Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

Хлесткина Елена Константиновна, чл.-кор. РАН, д.б.н., профессор РАН, директор, Всероссийский институт растениеводства имени Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург, Россия

Шумный Владимир Константинович, академик РАН, д.б.н., профессор, советник РАН, ФИЦ ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия

Programme Committee

Co-Chairs

Alexey Kochetov, Institute of Cytology and Genetics of SB RAS, Novosibirsk, Russia

Elena Salina, Institute of Cytology and Genetics of SB RAS, Novosibirsk, Russia

Members of the Programme Committee

Olga Afanasenko, All-Russia Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Russia

Dmitry Afonnikov, Institute of Cytology and Genetics of SB RAS, Novosibirsk, Russia

Lyudmila Bespalova, National Center of Grain named after P.P. Lukyanenko, Krasnodar, Russia

Mikhail Fedoruk, Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

Tatiana Gavrilenko, Federal Research Center the N.I. Vavilov All-Russia Institute of Plant Genetic Resources, St. Petersburg, Russia

Nikolay Goncharov, Institute of Cytology and Genetics of SB RAS, Novosibirsk, Russia

Tatyana Gorshkova, Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics of the KazSC RAS, Kazan, Russia

Gennady Karlov, All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology, Moscow, Russia

Elena Khlestkina, Federal Research Center the N.I. Vavilov All-Russia Institute of Plant Genetic Resources, St. Petersburg, Russia

Elena Kochieva, Federal Research Center Fundamentals of Biotechnology RAS, Moscow, Russia

Nikolay Kolchanov, Institute of Cytology and Genetics of SB RAS, Novosibirsk, Russia

Viktor Korzun, KWS SAAT SE & Co. KGaA, Einbeck, Germany

Vladimir Kosolapov, Federal Williams Research Center of Forage Production & Agroecology, Lobnya, Russia

Konstantin Krutovsky, Georg-August University of Göttingen, Göttingen, Germany

Irina Leonova, Institute of Cytology and Genetics of SB RAS, Novosibirsk, Russia

Lyudmila Lutova, SPbU, St. Petersburg, Russia

Irina Mitrofanova, Main Botanical Garden RAS, Moscow, Russia

Alexey Morgunov, Farabi University, Almaty, Kazakhstan

Kurbonali Partoev, Institute Botany, Plant Physiology and Genetics of the Academy Science of the Republic of Tajikistan, Dushanbe, Tajikistan

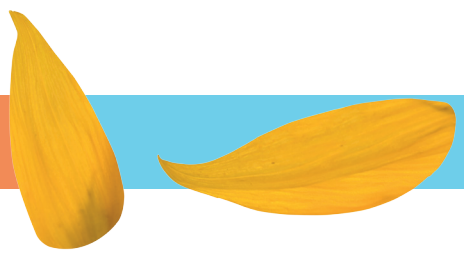
Mira Ponomareva, Tatar Research Institute of Agriculture FRC KazSC RAS, Kazan, Russia

Elena Potokina, Skolkovo Institute of Science and Technology (Skoltech), Moscow, Russia

Alexander Pryanishnikov, JSC "Schelkovo Agrohim", Moscow, Russia

Vladimir Shumny, Institute of Cytology and Genetics of SB RAS, Novosibirsk, Russia

Erlan Turuspekov, IPBB, Almaty, Kazakhstan



PlantGen

История конференции

2–5 июля 2025 года в Новосибирске проходит Международная научная конференция «Генетика, геномика, биоинформатика и биотехнология растений» – PlantGen2025, которая будет уже восьмой в этой серии.

Идея проведения конференции с такой тематикой возникла в Институте цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук (ИЦиГ СО РАН) еще в 2009 году в связи с тем, что за предыдущие десятилетия усилилось международное научное сотрудничество по ряду направлений биотехнологии, геномики и генетики растений.

В 2010 году была успешно проведена первая конференция этой серии. В ней приняли участие около 100 ученых из России и еще 11 стран мира, в том числе 20 иностранных участников из Австралии, Белоруссии, Индии, Ирана, Казахстана, Канады, Китая, США, Украины, Франции и Чехии.

Изначально было решено, что конференция станет серийной и будет проходить раз в два года. ИЦиГ СО РАН, инициатор и основной организатор конференций этой серии, провел суммарно четыре конференции PlantGen: в 2010, 2015, 2019 и 2021 годах. Три конференции этой серии состоялись также в 2012 году в Иркутске (на базе СИФИБР СО РАН), в 2017 году в Казахстане (Институт биологии и биотехнологии растений, Алматы) и в 2023 году в Казани (ФИЦ «Казанский научный центр Российской академии наук» и Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН).

Актуальность конференции из года в год подтверждается активностью ее участников и расширением их географии. Так, в 2021 году в работе конференции PlantGen2021 приняло участие 317 человек, из них 41 иностранный участник, включая 7 граждан России, работающих в зарубежных организациях. Участники конференции представляли 13 стран: Россия, Азербайджан, Армения, Белоруссия, Германия, Египет, Индия, Казахстан, Нигерия, Польша, Молдова, Узбекистан, Франция. В программе конференции было 240 лекций и докладов, в том числе 97 устных и 143 стендовых. В сборник вошло 230 тезисов.

В 2023 году количество участников составило 512 человек: 482 участника из России и 30 международных. Участники представляли 14 стран: Россия, Беларусь, Гана, Германия, Индия, Иран, Казахстан, Колумбия, Молдова, Сирийская Арабская Республика, Тунис, Узбекистан, Франция, Эквадор. Из 512 человек – 393 участника были с докладами всех форматов.

В 2025 году в конференции принимают участие 360 участников, в том числе международное участие представлено 49 участниками из России и 15 стран: Австралия, Беларусь, Индия, Казахстан, Китай, Молдова, Пакистан, Саудовская Аравия, Парагвай, Судан, Таджикистан, Таиланд, Туркменистан, Узбекистан, Эквадор. В программе конференции PlantGen2025 298 докладов, из них 99 устных, в том числе пленарных и флэш, и 199 постерных. Издан сборник материалов конференции, включающий 255 тезисов.



Участники конференции PlantGen2015

Организатор конференции – Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук

Директор: академик РАН *Алексей Владимирович Кочетов*
Научный руководитель: академик РАН *Николай Александрович Колчанов*
Ученый секретарь: канд. биол. наук *Галина Владимировна Орлова*
Тел.: +7 (383) 363 4985, email: gorlova@bionet.nsc.ru

Институт создан в 1957 году в числе первых институтов Сибирского отделения АН СССР. В настоящее время ИЦиГ СО РАН – мультидисциплинарный, многопрофильный биологический институт, который по праву считается одним из ведущих научных учреждений биологического профиля в России. В мае 2017 года закончился второй этап реорганизации Федерального исследовательского центра Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук.

ФИЦ ИЦиГ СО РАН включает три филиала: Сибирский научно-исследовательский институт растениеводства и селекции (СибНИИРС), Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии (НИИКЭЛ), Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины (НИИТПМ).

В состав Федерального исследовательского центра входит также отделение «Курчатовский геномный центр ИЦиГ СО РАН».

Стратегическая цель – получение новых знаний в области генетики и клеточной биологии, разработка и применение генетических технологий для решения приоритетных задач развития научно-технологического комплекса Российской Федерации.

Приоритетные задачи – получение новых фундаментальных знаний в области общей и молекулярной генетики и клеточной биологии; разработка и внедрение генетических технологий для агропромышленного комплекса, медицины и биотехнологии.

Позиционирование ИЦиГ СО РАН осуществляется по следующим направлениям: достижение результатов, обеспечивающих технологический суверенитет и конкурентные позиции Российской Федерации в стратегически важных для государства областях, включая генетические технологии для медицины, фармакологии, биотехнологической промышленности и сельского хозяйства.

Кадровый состав. На 1 января 2025 года структура ФИЦ ИЦиГ СО РАН состояла из 159 научных подразделений. В институте работают 1394 человека, в том числе 480 научных сотрудника, из них 44% сотрудников в возрасте до 39 лет, 6 академиков РАН, 5 членов-корреспондентов РАН, 93 доктора наук, 288 кандидатов наук. В 2025 году в ФИЦ ИЦиГ СО РАН обучается 80 аспирантов и 39 ординаторов.

Публикации. Институт активно публикуется в российских и зарубежных журналах и является в российской биологии одним из признанных лидеров. В 2024 году в рецензируемых журналах опубликована 671 статья сотрудников Института. В 2020–2024 годах на платформах Web of Science или Scopus было размещено 2616 статей сотрудников ИЦиГ СО РАН. Институт является лидером среди научно-исследовательских институтов и вузов РФ по количеству статей в Web of Science по направлению Genetics/Heredity.

Научные журналы. ИЦиГ СО РАН – учредитель и издатель четырех научных рецензируемых журналов: «Вавиловский журнал генетики и селекции» (Белый список К1, WoS Q3, Scopus Q2), «Сибирский научный медицинский журнал» (Белый список К3, Scopus Q4), «Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции» (Перечень ВАК), «Атеросклероз» (Перечень ВАК).

Имущественный комплекс. Земельный участок площадью 35 тыс. га, закрепленный на праве постоянного пользования; 85 тыс. м^2 рабочих площадей, расположенных на территории Советского района г. Новосибирска, Барышевского сельского совета Новосибирской области, в Искитимском и Черепановском районах и в пос. Краснообск Новосибирской области.

Адрес: 630090, Россия, Новосибирск, проспект Академика Лаврентьева, 10
тел./факс: +7 (383) 363 4980/+7 (383) 333 1278
www.icgbio.ru, email: icg-adm@bionet.nsc.ru

Conference Organizer – Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

Director: Full Member of the RAS *Alexey V. Kochetov*
Academic Advisor: Professor, Full Member of the RAS *Nikolay A. Kolchanov*
Academic Secretary: Candidate of Science (Biology) *Galina V. Orlova*
Phone: +7 (383) 363 4985 ext. 1336, email: gorlova@bionet.nsc.ru

The Institute was founded in 1957, among the first institutions of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences. It is situated in the Novosibirsk Akademgorodok. Presently, ICG SB RAS is an interdisciplinary biological center, which ranks among the leading biological institutions in Russia. The second step of the restructuring of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics was completed in May 2017. Presently, ICG includes three affiliated branches:

- Siberian Research Institute of Plant Production and Breeding (SibRIPPB). The institute is located in Krasnoobsk Village and the Novosibirsk rural area. It conducts academic, prospective, and applied studies including the collection, examination, preservation, and utilization of plant genetic resources for obtaining new biological knowledge; expansion and improvement of crop gene pools;
- Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology (RICEL);
- Research Institute of Internal and Preventive Medicine (RIIPM).

RICEL and RIIPM are situated in the Sovetskiy and Oktyabr'skiy districts of Novosibirsk. They conduct academic, prospective, and applied studies in molecular medicine and human genetics. They also provide medical care.

The branch "Kurchatov Genomic Center ICG SB RAS" became one of the divisions of the Federal Research Center.

Tasks of ICG SB RAS: Solution of top-priority problems in the development of the Russian science and technology sector in plant genetics and breeding, animal genetics and breeding, human genetics, biotechnology, and fundamental medicine by applying methods of molecular genetics, cell biology, and computational biology.

Strategic goal: Integrated studies in plant genetics and breeding, animal genetics and breeding, human genetics, fundamental medicine, and biotechnology by applying methods of molecular genetics, cell biology, and computational biology from the generation of academic knowledge to the solution of top priority problems set by Russian agricultural, biotechnological, biomedical, and pharmaceutical industries.

Staff: As on January 1, 2025, ICG SB RAS included 159 scientific units. The institute employs 1394 members, of them 480 researchers, 2 RAS Advisor, 6 Full Members of the RAS, 5 Corresponding Members of the RAS, 93 Doctors of Science, and 288 Candidates of Science. In 2025 at the ICG SB RAS trains 80 postgraduates and 39 ordinators.

Publications: The Institute ranks among acknowledged leaders in Russian biology. Numerous works of its researchers are published in Russian and foreign academic journals. In 2024 the overall number of publications in peer-reviewed periodicals is 671. In 2020–2024 the WoS or Scopus published 2616 articles from ICG researchers.

Scientific journals: Institute of Cytology and Genetics is the founder of the following scientific journals: *Vavilov Journal of Genetics and Breeding* (WoS Q3, Scopus Q2), *Siberian Scientific Medical Journal* (Scopus Q4), *Letters to Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, *Atherosclerosis*.

Auxiliaries: Core facility "Center for Genetic Resources of Laboratory Animals", which includes the unique research unit "SPF vivarium", and seven shared access centers (www.bionet.nsc.ru/uslugi/).

The Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics is looking to cooperate with scientific and commercial enterprises.

Address: Prospekt Lavrentyeva 10, Novosibirsk, 630090 Russia
phone: +7(383) 363 4980; fax: +7(383) 333 1278
URL: www.icgbio.ru, email: icg-adm@bionet.nsc.ru

N* Новосибирский государственный университет
*НАСТОЯЩАЯ НАУКА



НГУ В ЦИФРАХ И ФАКТАХ

>8 600
СТУДЕНТОВ

>1700
ИНОСТРАННЫХ СТУДЕНТОВ
ИЗ 60 СТРАН МИРА

ТОП-250
СРЕДИ ЛУЧШИХ ВУЗОВ МИРА

6 МЕСТО
В РОССИИ
Международный рейтинг
The Three Univesity Missions

6
факультетов

4
института

*** 2800**
ПРЕПОДАВАТЕЛЕЙ

720
ДОКТОРОВ НАУК

80%
ПРЕПОДАВАТЕЛЕЙ – ДЕЙСТВУЮЩИЕ ИССЛЕДОВАТЕЛИ

102
ЧЛЕНА РАН
СРЕДИ ВЫПУСКНИКОВ

98
ПАРТНЕРСКИХ УНИВЕРСИТЕТА
в 21 стране

>50
ОРГАНИЗАЦИЙ –
ИНДУСТРИАЛЬНЫХ ПАРТНЕРОВ

37
НАУЧНЫХ ИНСТИТУТОВ-ПАРТНЕРОВ
в Академгородке

>1700
ПУБЛИКАЦИЙ ЕЖЕГОДНО
В МЕЖДУНАРОДНЫХ БАЗАХ ДАННЫХ

>30
НАУЧНЫХ КОНФЕРЕНЦИЙ ЕЖЕГОДНО

10
НАУЧНЫХ ЖУРНАЛОВ

КОНКУРСЫ И ГРАНТЫ

МЕЖДУНАРОДНЫЕ КОЛЛАБОРАЦИИ
В ОБЛАСТИ ФИЗИКИ ВЫСОКИХ ЭНЕРГИЙ

БОЛЕЕ 50
ЛАБОРАТОРИЙ

9
В ТОМ ЧИСЛЕ **МОЛОДЕЖНЫХ**

ПРОГРАММА ПРИВЛЕЧЕНИЯ
молодых специалистов

Генеральный спонсор / General Sponsor

ООО «ФЕНОМИКА»
phenomics.ru

Золотые спонсоры / Gold Sponsors

ООО "Пластилин"
plastilin.team

ООО "Компания "АЗИМУТ ФОТОНИКС"
azimp.ru
azimp-micro.ru

ООО «ИНТЕРГЕН»
intergen.ru

ООО «ФАРМА»
pharma-se.ru

Серебряные спонсоры / Silver Sponsors

ООО «НПФ СИНТОЛ»
syntol.ru

ООО «ТД «ХИММЕД»
chimmed.ru

ООО «ДИАЭМ» / DIA-M
dia-m.ru

ООО «СкайДжин» / SkyGen
skygen.com

Бронзовые спонсоры / Bronze Sponsors

Официальный дистрибьютор Cegat GmbH –
ООО «Альгавитапро»
ngseq.ru

ООО «БХБ»
biohim.store

ООО «БИОЛАБМИКС»
biolabmix.ru

Базовый спонсор / Basic Sponsor

ЗАО «ЕВРОГЕН»
evrogen.ru

ФЕНОМИКА

ФЕНОМЕНАЛЬНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ВИЗУАЛИЗАЦИИ

www.phenomics.ru
info@phenomics.ru
vk.com/phenomica

РАСКРОЙТЕ ПОТЕНЦИАЛ ВАШИХ РАСТЕНИЙ



- Технологии высокопроизводительного фенотипирования растений
- Гипер- и мультиспектральная съемка
- Решения для лабораторий и полевых исследований
- Проектирование и строительство теплиц и фитотронов
- Технологии для маркерной селекции

PHENOSPEX

谷丰光电® GREENPHENO

Hi Point

SPECTRICON

PhotosynQ

Цифровое фенотипирование растений

Селекция и выведение новых сортов (выделение агрономически значимых признаков, оценка реакции растений на стресс, сопоставление генетических и фенотипических данных)

Прикладные исследования (изучение физиологии, морфологии, фотосинтеза, моделирование роста и развития растений, исследования генотип-фенотип-среда)

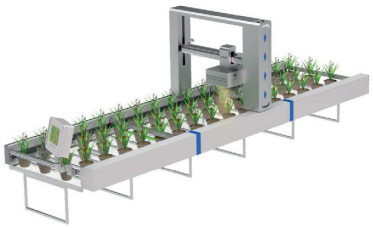
Мониторинг состояния растений в реальном времени (оценка стрессовых состояний, выявление болезней, определение здоровья посевов)

Контроль качества в тепличных и полевых условиях (отслеживание развития растений, работа в связке с системами по уходу за растениями)

3D-моделирование (создание цифровых копий образцов, построение прогностических моделей урожайности и роста, использование алгоритмов ИИ для предсказательных моделей стрессов, продуктивности, отклонений)



Современные решения компании PHENOSPEX позволяют проводить комплексный анализ морфологических и спектральных характеристик растений в различных условиях окружающей среды.



Инновационное оборудование GREENPHENO предоставляет широкие возможности для изучения растений, а также корневых систем

Спектральная визуализация и съемка

Оценка физиологического состояния растений (содержание хлорофилла, водный, температурный, солевой стресс, раннее выявление болезней и вредителей, оценка фотосинтетической активности)

Селекция растений (количественная оценка признаков, сравнение сортов, маркерная селекция - сопоставление генотипа и фенотипа растения)

Мониторинг сельскохозяйственных посевов (картирование по биомассе, содержанию влаги, определение неоднородностей на участке, оценка урожайности)

Контроль качества (оценка зрелости и степени спелости плодов, выявление дефектов и повреждений, контроль качества и однородности семян)

Современные исследования (моделирование метаболических процессов, разработка методов диагностики и обработки данных с использованием ИИ-алгоритмов)



Гипер- и мультиспектральные камеры от компании SPECTRICON обеспечивают высокую скорость съемки с пространственным разрешением высокой четкости и гибко настраиваются под конкретную задачу

ФЕНОМИКА

Теплицы и фитотроны

Комплексный подход позволяет создать полностью автоматизированные теплицы и фитотроны с высокой точностью контроля параметров.

- Системы климат-контроля с автоматическим регулированием температуры, влажности и вентиляции.
- Оптимальные параметры освещения и управление световыми циклами.
- Гидропонные и аэропонные системы, капельный полив, NFT-системы, системы подачи питательных растворов с контролем pH и EC.
- Системы мониторинга и управления - контроль параметров окружающей среды, программное обеспечение для управления и анализа в реальном времени.
- Стерилизация и защита от патогенов, системы обеззараживания.



Инженерные услуги полного цикла по проектированию и строительству фитотронов и теплиц

Камеры роста растений

Камеры роста обеспечивают идеальные условия для растений, ускоряя их развитие и позволяя проводить прецизионные эксперименты.

- Точный контроль среды, поддержание заданной температуры, влажности, освещенности и уровня CO2. Программирование суточных циклов.
- LED-лампы с настраиваемым спектром, регулирование интенсивности и фотопериода.
- Мониторинг и управление - встроенные датчики, возможность удаленного контроля.
- Многоуровневая организация внутреннего пространства.
- Компактные модели и камеры для массового выращивания растений.



Компания HiPoint предлагает широкий ассортимент камер роста растений высокого класса

ФЕНОМИКА

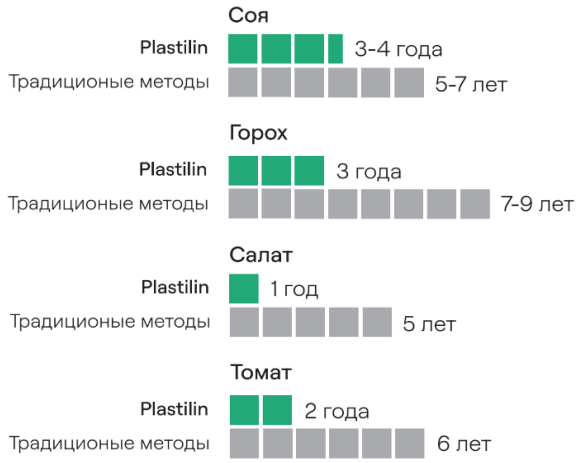
PLASTILIN

ПРОЕКТИРОВАНИЕ ЖИВЫХ СИСТЕМ

ОПТИМИЗАЦИЯ СРОКОВ РАЗРАБОТКИ СОРТОВ С PLASTILIN

В условиях возрастающей конкуренции и необходимости оперативного реагирования на рыночные запросы, Plastilin предлагает революционное решение для оптимизации процесса селекции. Наша биотехнологическая платформа, основанная на интеграции алгоритмов биоинформатики, машинного обучения и геномных технологий, обеспечивает значительное сокращение времени разработки новых сортов – до 2-3 раз по сравнению с традиционными методами.

Сравнительный анализ сроков разработки:



Ключевые преимущества работы с PLASTILIN:

- **Ускоренный вывод на рынок** инновационных сортов, обеспечивающий конкурентное преимущество.
- **Повышение рентабельности НИОКР** через снижение затрат на исследования и разработки за счет оптимизации селекционного процесса.
- **Стратегическая гибкость** и адаптация к динамично меняющимся требованиям рынка и потребительским предпочтениям.

2 МЕСЯЦА	1 МЕСЯЦ	2 ГОДА	1 ГОД	РЕЗУЛЬТАТ
ВЫДЕЛЕНИЕ И СЕКВЕНИРОВАНИЕ ДНК	**БИОИНФОРМАТИКА, ML/DL**	**ОЦИФРОВАННАЯ СЕЛЕКЦИЯ, ГЕННОЕ РЕДАКТИРОВАНИЕ**	**ПОЛЕВЫЕ РАБОТЫ**	НОВЫЙ СОРТ
▪ Проращивание семенного материала. ▪ Экстракция ДНК и секвенирование NGS.	▪ Анализ генома с целью выявления генов, отвечающих за наличие ценных признаков.	▪ Инструменты in vitro для ускоренного отбора генетически интересных образцов. ▪ Методы направленной селекции и геномной коррекции CRISPR-Cas.	▪ Тестирование растения в поле и подтверждение заданных свойств.	

PLASTILIN

ПРОЕКТИРОВАНИЕ ЖИВЫХ СИСТЕМ

ИНТЕГРИРОВАННАЯ ПЛАТФОРМА ГЕНОМНОЙ СЕЛЕКЦИИ PLASTILIN

Plastilin предлагает комплексное решение для трансформации процесса селекции из традиционного подхода в управляемый процесс, основанный на цифровом анализе и предиктивном моделировании. Наша интегрированная платформа объединяет ключевые технологии для обеспечения высокой эффективности и точности селекции:

- Управление селекционными процессами
- Анализ генетических данных
- Искусственный интеллект
- Геномная селекция
- Расчет результатов селекции



Функциональные возможности платформы PLASTILIN:

- **Целенаправленное конструирование:** Разработка сортов с заданными фенотипическими характеристиками, отвечающих конкретным требованиям.
- **Повышение устойчивости:** Интеграция генов устойчивости к патогенам (вирусам, бактериям, грибам) и абиотическим стрессорам (засуха, засоленность, температурные колебания).
- **Оптимизация качественных характеристик:** Улучшение биохимического состава, включая содержание белка, жирных кислот и ароматических соединений.

Опыт применения внутри компании

Мы проверили все этапы работы платформы в собственных кейсах.

Горох: за 3 года выведены 4 сорта и переданы на ГСИ. Сорта обладают характеристиками:

• стабильно высоким содержание белка (31%+)

• высокой урожайностью

• содержанием амилозы

• устойчивостью к полеганию

Работы, которые ведутся на платформе клиентами

Разработки в области геномной и маркерной селекции интегрированные и применяются в бизнес-процессах внешними клиентами платформы. В рамках платформы сейчас работают 10 компаний и 7 научных институтов и вузов.

Решение для всех платформ:

web версия, Google Play, AppStore (скоро).

PLASTILIN

ПРОЕКТИРОВАНИЕ ЖИВЫХ СИСТЕМ

PLASTILIN: СТРАТЕГИЧЕСКИЙ ПАРТНЕР ДЛЯ ИННОВАЦИЙ В АГРОБИЗНЕСЕ

Plastilin – это биотехнологическая компания, ориентированная на разработку и внедрение передовых решений для растениеводства. Мы предлагаем комплексный подход к созданию новых сортов и оптимизации производственных процессов, обеспечивая нашим партнерам устойчивое развитие и конкурентное преимущество.

Варианты взаимодействия в семеноводстве

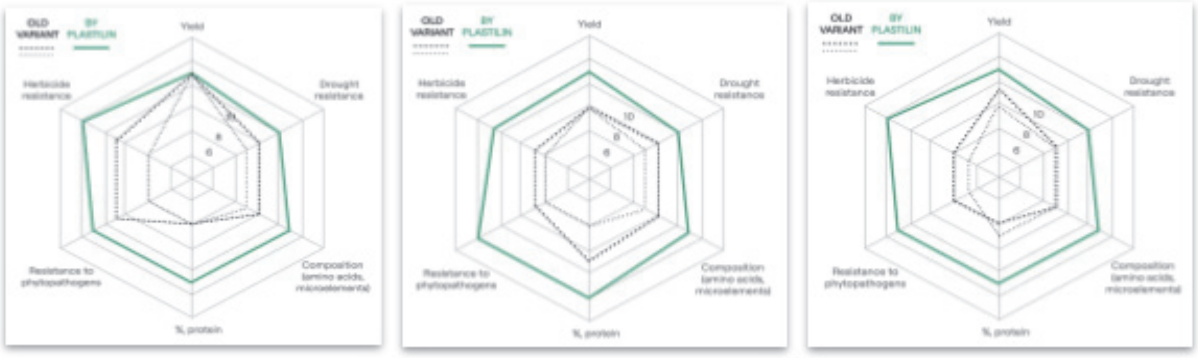
Используя разработанную нами технологию создания оптимальной комбинации необходимых генов заданного типа в пределах одного растения, мы значительно ускоряем селекционный процесс. Наша технология позволяет улучшать сорта и гибридные компоненты одновременно по нескольким признакам.

Наша технологическая платформа имеет потенциал для создания новых сортов различных культур, в том числе гибридов, с заданными характеристиками, пригодных **для выращивания в любом регионе.**

Создание сорта «под ключ»

• Ускоренное создание сорта с использованием современных технологий по техническим условиям

• Первичное семеноводство



Мы можем использовать ИИ для разработки проектов новых сортов и определения новых регионов для выращивания сельскохозяйственных культур

Конкурентные преимущества PLASTILIN:

- **Передовые технологии:** Использование современных методов биоинформатики, машинного обучения и геномного редактирования.
- **Операционная эффективность:** Оптимизация сроков и затрат на разработку сортов.
- **Стратегическое партнерство:** Ориентация на долгосрочное сотрудничество и совместное создание ценности.

Контактная информация:
www.plastilin.team, Москва, Россия

Аналитическое оборудование для изучения биологических объектов и сред

www.azimp-micro.ru

Оборудование для исследования процессов газообмена



Особенности:

- Измерение газообмена почв, растений, водорослей
- Анализ метана (CH_4), паров воды (H_2O)
- Анализ углекислого газа (CO_2)
- Контроль температуры и освещения

Оборудование для исследования процессов фотосинтеза



Особенности:

- Изучение фотосинтеза, дыхания и транспирации листьев
- Автоматизированные расчеты
- Широкий выбор измеряемых параметров
- Работа как в лаборатории, так и в поле

Системы гиперспектральной визуализации



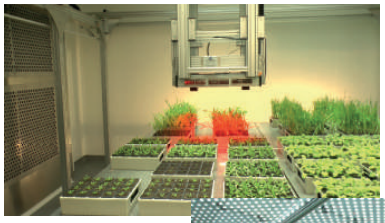


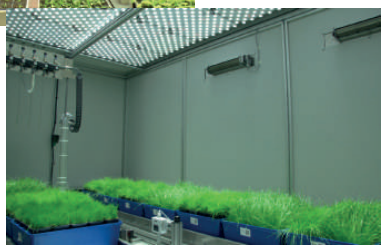
Особенности:

- Спектральный диапазон: 400 - 1000 нм
- Мгновенное получение данных измерений
- Высокое разрешение изображений
- Компактный размер

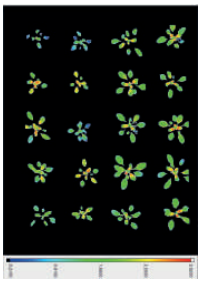
АЗИМУТ ФОТОНИКС

Системы автоматизированного фенотипирования









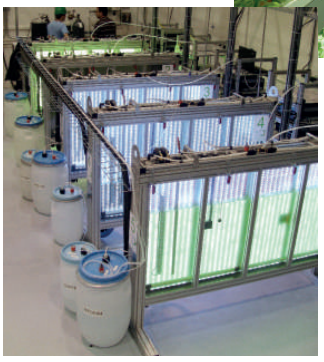
Особенности:

- Работа с несколькими сотнями растений
- Культивирование и фенотипирование растений
- Полностью контролируемые условия
- Автоматические измерения
- Предназначены для растений различных размеров
- Работа как в лаборатории, так и в поле
- Опционально: встроенный конвеер

Системы контроля и регуляции условий окружающей среды







Особенности:

- Помещения для выращивания растений в контролируемых условиях
- Камеры для выращивания растений в контролируемой среде
- Регулировка освещения
- Большие фотобиореакторы для выращивания микроорганизмов в контролируемых условиях
- Мониторинг всех параметров сред с помощью широкого набора датчиков контроля условий

АЗИМУТ ФОТОНИКС

АЗИМУТ ФОТОНИКС

О компании

Основным направлением деятельности компании **АЗИМУТ ФОТОНИКС** является поставка оптоэлектронных компонентов ведущих мировых производителей на территории России, разработка новых проектов, а также техническая и информационная поддержка клиентов.

Целью своей работы мы видим содействие развитию и поддержку проектов российских производственных компаний и научно-исследовательских институтов, внедряя современные технологии и инновационные решения в области оптоэлектроники в серийное производство.

Услуги

- Предоставление образцов;
- Подбор оптимальных аналогов;
- Консультации по применению;
- Обеспечение технической документацией;
- Согласование параметров изделий с производителем;
- Подготовка документации для процедур конкурсных закупок;
- Проведение семинаров с участием представителей компаний производителей.

Поставщики

QUBIT SYSTEMS

PHOTON SYSTEMS INSTRUMENTS

WALZ

LI-COR

PhenoVation Life Sciences

SPECIM A Konica Minolta Company

FIGSPEC®

Контакты

АЗИМУТ ФОТОНИКС

info@azimp.ru
www.azimp.ru
www.azimp-micro.ru

Москва

ул. Шаболовка, д. 10, корп. 1
(м. Шаболовская)
+7 (495) 792-39-88

Санкт-Петербург

ул. Рентгена, д. 7А
(м. Петроградская)
+7 (812) 407-10-47

ИНТЕРГЕН



Более 20 лет специализируемся на оптической микроскопии

Уникальный многолетний опыт работы официальным дистрибьютором Olympus, а также обширные знания микроскопов и технологий Zeiss, Leica и Nikon позволяют нам успешно предлагать решения для Ваших индивидуальных задач.

Являемся официальным дистрибьютором ASI

Applied Spectral Imaging (ASI) — ведущий разработчик инновационных систем для цитогенетических исследований и патоморфологии. Высокотехнологичное оборудование бренда мирового уровня для лабораторий, клиник и научных центров.

Предлагаем эксклюзивное комплексное решение

- комплекс микроскопа WideScopiX и программного обеспечения ASI (Applied Spectral Imaging).

✓ Полная совместимость

Наши микроскопы WideScopiX идеально интегрируются с ручными системами ASI

✓ Гарантия качества

Оба бренда соответствуют мировым стандартам

✓ Оптимальное соотношение

Специальные условия на комплектную поставку

Хотите узнать больше?
Будем рады обсудить Ваши задачи!

WIDESCOPIX

Оптическая микроскопия

ИНТЕРГЕН

За каждым нашим микроскопом стоит комплексное решение ваших индивидуальных задач. Годы работы с лидерами рынка научили нас главному: настоящее качество начинается там, где технологии точно соответствуют потребностям пользователя. Базируясь на этих принципах родился наш собственный бренд оптических микроскопов **WideScopiX** .

Хотите поближе познакомиться с WideScopiX? Мы подготовили для Вас видео-визитки каждой модели. Переходите по QR коду ниже, открывайте вкладку «видео». Приятного просмотра!

Прямой

Инвертированный

Стереоскопический



Гарантия надежности

Работаем исключительно с проверенными компонентами

Персонализированные сборки

Адаптируем системы под ваши уникальные потребности

Профессиональное сопровождение

Эксперты WideScopiX всегда на связи

WideScopiX SC53



APPLIED SPECTRAL IMAGING

надежный партнер в цитогенетических исследованиях

ИНТЕРГЕН

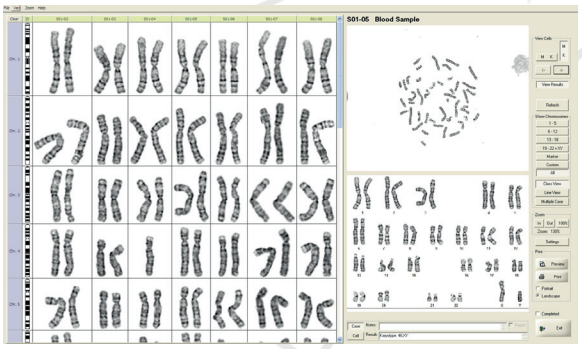
официальный дистрибьютор ASI

Компания ASI — мировой лидер в разработке систем для:

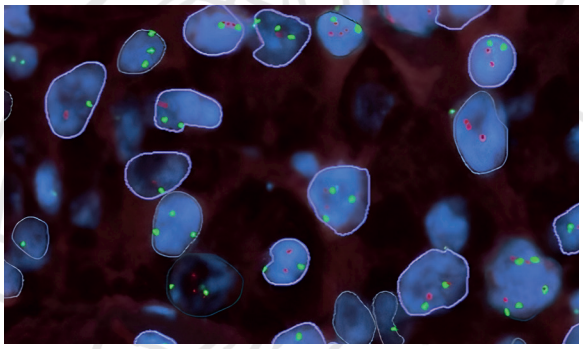
- ✓ Молекулярной цитогенетики
- ✓ Онкологических исследований
- ✓ Пренатальной диагностики

Специальные решения для генетических лабораторий

ASI HiBAND - программное обеспечение для кариотипирования хромосом человека, животных и растений, с пакетом автоматического поиска метафаз.



ASI HiFISH - программное обеспечение для автоматического FISH анализа HER2, HER2/neu, ALK, CEP XY и др.





Совместимость с микроскопами:

- Olympus, Zeiss
  (ручные и моторизованные системы)
- WideScopiX, Leica
  (только ручные системы)

Нужна консультация?
Обращайтесь в Интерген!

ФАРМА

Направления деятельности

Биохимическое оборудование
Учебное оборудование
Оборудование для аналитической химии:

- Хроматография и масс-спектрометрия
- РФА-спектроскопия
- ЯМР-спектроскопия
- ИК- и КР-спектроскопия
- ААС, ИСП, ИСП-МС
- Дифрактометрия
- Микроскопия
- ТОС-анализаторы
- Каталитические установки и химические реакторы
- Установки микроволнового синтеза
- Титриметри́ческий ана́лиз
- Оборудование для микрофлюидики
- Общелабораторное оборудование и посуда
- Лабораторная мебель
- Проектирование лабораторий под ключ

КОНТАКТЫ:

Москва, Мичуринский проспект, 45

Новосибирск, Академгородок, улица Николаева 11/5

+7 (383) 330-82-95
+7 (495) 513-13-54

sales@pharma-se.ru
www.pharma-se.ru

Магнитные частицы



SynMag

для очистки продуктов ПЦР
и разделения ДНК по размерам

SeqMag

для очистки реакционных
смесей после реакции Сэнгера

Классическое секвенирование ДНК

Всё необходимое для секвенирования методом Сэнгера



GenSeq

набор для секвенирования
по методу Сэнгера

Нанофор 05

капиллярный генетический
анализатор открытого типа



Оценка концентрации ДНК





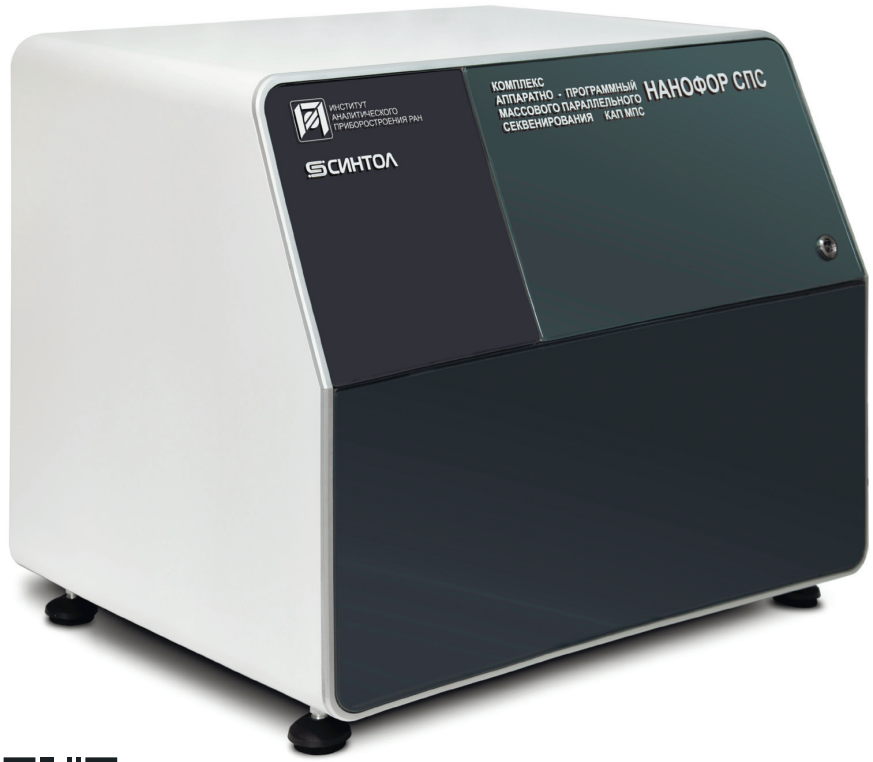
Флуориметр **Qubix**

для измерения концентрации ДНК, РНК и белков

Реагенты **СинКвант**

серия наборов для измерения концентрации дцДНК, РНК, белков

Массовое параллельное секвенирование



Нанофор СПС

генетический анализатор для массового параллельного секвенирования

SyntEra

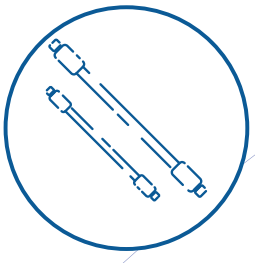
набор для подготовки геномных библиотек для массового параллельного секвенирования



ООО «НПФ Синтол»
127434, Москва, Тимирязевская 42
syntol@syntol.ru

СИНТОЛ
НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННАЯ КОМПАНИЯ

КОМПЛЕКСНОЕ ОСНАЩЕНИЕ ЛАБОРАТОРИЙ



Хроматографические колонки



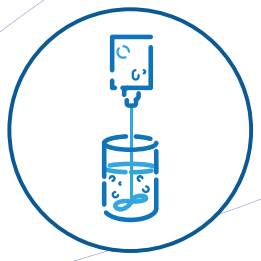
Стандартные образцы



Растворители для ВЭЖХ / ОСЧ



Аналитические приборы



Лабораторное оборудование



Оборудование Life Sciences



Микробиология



Химические реактивы



Биохимические реактивы

Более 20 тысяч позиций в наличии на складе в Москве!

Новосибирск, 630090, просп. Академика Лаврентьева, 6/1, оф. 100,
тел.: +7 (383) 335 6102, e-mail: sibir@chimmed.ru
chimmed.ru

S100 - секвенатор NGS от Cygnus Biosciences.
Новое качество секвенирования с точностью 10x



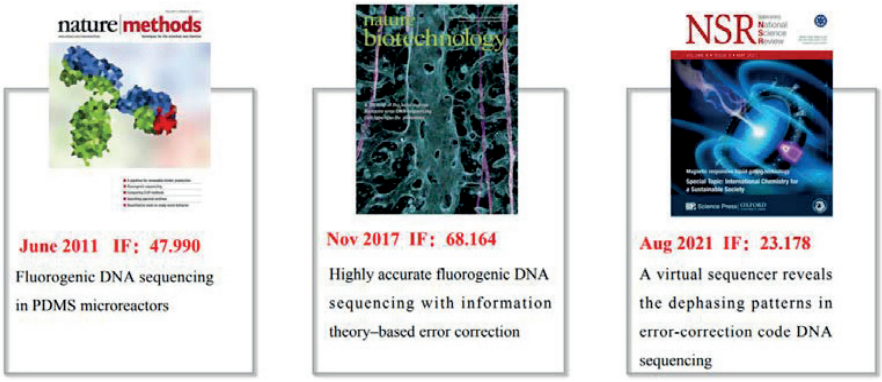
Двойной режим секвенирования
- Сверхбыстрый BitSeq и сверхточный ECC
- Адаптация под задачи

Непревзойденная точность
- Q40 > 80%
- Идеально для детекции низкочастотных мутаций

Быстрое получение результатов
- 6,5 часов в режиме BitSeq SE75
- 12 часов в режиме ECC SE75
- Незаменим для приложений, требующих срочности: метагеномное секвенирование mNGS, ПГТ-А, НИПТ

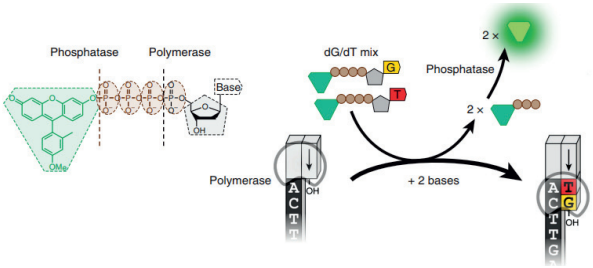
Гибкость использования
- Совместимость с основными библиотеками (Illumina, Ion Torrent)
- Режимы прочтения SE75/SE150/PE150

Основы технологии изложены в публикациях с общим импакт фактором > 139



Инновации в технологии секвенирования

Оригинальная флуорогенная химия

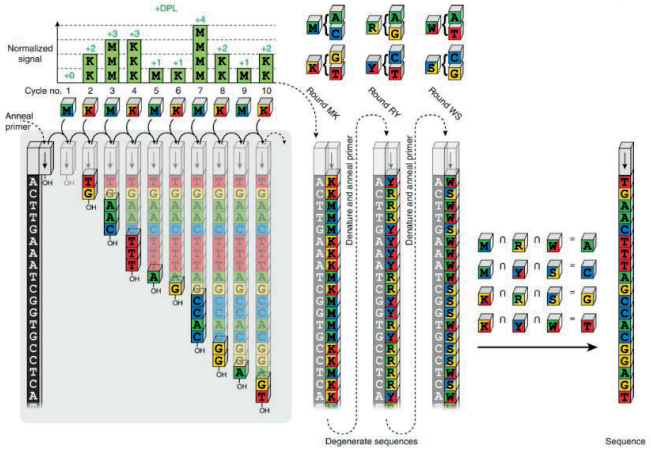


- Запатентованная линейка флуорофоров с высоким квантовым выходом, коэффициентом абсорбции, высоким соотношением между «включенным» и «выключенным» состоянием, лучшей фотостабильностью.
- Включение в растущую цепь нативных нуклеотидов. Такой подход не оставляет молекулярных шрамов, тем самым уменьшая возможность ошибок секвенирования и увеличивая длину ридов.

Секвенирование со включением 2 типов нуклеотидов за цикл

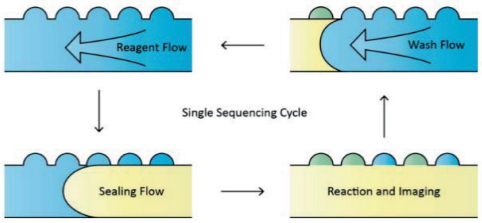
Режим BitSeq – генерация вырожденной последовательности с частичной информацией о составе цепи. Идеально для приложений, затрагивающих количественный состав генома. Результат за 1/3 времени стандартного секвенирования.

Режим ECC – секвенирование с повышенной в 10 раз точностью. Последовательное 3-х кратное ортогональное прочтение цепи с генерацией точной последовательности и применение уникального алгоритма коррекции ошибок (ECC) – идеально для детекции низкочастотных вариантов.



Уникальная проточная ячейка

Запатентованная повторная герметизация органической/водной фазой для точного контроля реакции

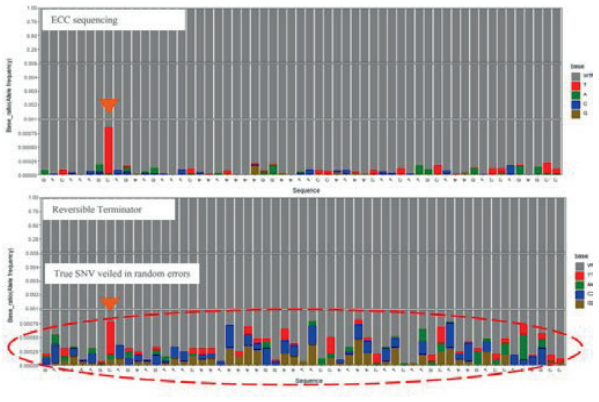


Параметры секвенирования

Совместимость с библиотеками Illumina, Ion Torrent
Два режима секвенирования: BitSeq и ECC

Чип, риды	Длина прочтения	Объем данных	Время анализа	Качество (ECC)
25 M	SE75	1,8 G	ECC 12ч BitSeq 6,5ч	Q30＞90% Q40＞80%
	SE150	3,7 G	ECC 18ч BitSeq 9ч	Q30＞90% Q40＞80%
	PE150	7,5G	ECC 30ч	Q30＞90% Q40＞80%
80 M	SE75	7,5G	ECC 15ч BitSeq 8ч	Q30＞90% Q40＞80%
	SE150	15G	ECC 24ч BitSeq 10ч	Q30＞90% Q40＞80%
	PE150	30G	ECC 40ч	Q30＞90% Q40＞80%

Сравнение частоты фоновых ошибок при детекции редких мутаций



ECC секвенирование детектирует редкие SNV с аллельной частотой 0.1% без использования UMI

ECC секвенирование имеет высокое отношение сигнал/шум по сравнению с обычным секвенированием

ДИА•М
современная лаборатория

Диаэм, Москва ■ ул. Магаданская, д. 7, к. 3 ■ тел./факс: 8 (800) 234-0508 ■ sales@dia-m.ru

С.-Петербург spb@dia-m.ru
Новосибирск nsk@dia-m.ru
Воронеж vrn@dia-m.ru
Йошкар-Ола nba@dia-m.ru
Красноярск krsk@dia-m.ru
Казань kazan@dia-m.ru
Ростов-на-Дону rnd@dia-m.ru
Екатеринбург ekb@dia-m.ru
Кемерово kemerovo@dia-m.ru
Нижний Новгород nnovgorod@dia-m.ru

мобильное приложение
www.dia-m.ru

Вдохновляем
на научные
открытия!



SkyGen

8(800)333-12-26 sales@skygen.com

SkyGen Kits NA

Широкий выбор наборов реагентов для выделения и очистки ДНК и РНК из клеток, тканей, дрожжей, нестандартных и редких образцов



Артикул: EDC336



Артикул: ERC441

Набор "SKYAmp Soil DNA Kit"

Набор предназначен для выделения ДНК из различных образцов почвы на микроцентрифужных колонках. В SkyAmp Soil используется буферная система, с помощью которой можно полностью удалить гуминовую кислоту из образца, а также гомогенизирующие частицы диаметром 1 мм, гарантирующие целостность ДНК.

Набор предназначен для работы с красной почвой, пылью, шламом и другими специфическими образцами почвы.

- Технология выделения: на спин-колонках
- Тип НК: ДНК
- Формат: Набор
- Тип биоматериала: Почва

Набор "SKYprep RNA Pure Plant Plus Kit"

Набор предназначен для выделения тотальной РНК из растительных тканей на микроцентрифужных колонках.
В состав набора входит уникальный буфер СЛ, оптимально лизирующий растительные ткани.
Общее время выделения составляет 1 час.

Набор протестирован на мякоти бананов, арбузов, яблок, груш, клубнях картофеля, а также листьях хлопчатника, розы, люцерны, риса и белой сосновой хвое.

- Технология выделения: на спин-колонках
- Тип НК: РНК
- Формат: Набор
- Тип биоматериала: Растения

NEXTGENSEQ.TECH



Исследование генетического материала на оборудовании Illumina и PacBio согласно мировым стандартам качества

Фото с сайта: https://www.illumina.com/systems/sequencing-platforms/novaseq-x-plus.html

NEXTGENSEQ.TECH

Решения в области науки от официального дистрибьютора CeGaT GmbH

О Нас:

ООО "Альгавитапро" является эксклюзивным партнером CeGaT GmbH (cegat.com) в России.

О CeGaT:

CeGaT основан в 2009 году в Германии, Тюбинген. Компания специализируется в области NGS для проведения генетической диагностики, а также кастомизированных решений для науки и фарминдустрии. CeGaT предлагает широкий спектр подходов, в том числе для исследований в области геномики, транскриптомики, анализа микробиома и многих других направлений.

Профессиональная команда CeGaT поможет Вам найти оптимальное решение и достигнуть поставленных научных целей.

Что Вы получаете:

- Проведение работ по высшим мировым стандартам качества
- Секвенирование на платформах Illumina NovaSeq X Plus/6000, PacBio Sequel IIe
- Возможность выбирать любые параметры и режимы секвенирования
- Высокая скорость выполнения работ
- Персональное ведение каждого проекта

Наши решения в области NGS Illumina/PacBio

- Полногеномное секвенирование
- Полноэкзомное секвенирование
- Транскриптомный анализ
- Shotgun метагеномный анализ
- 16S (V1-V9) профилирование
- Секвенирование готовых библиотек
- Секвенирование малых РНК
- Секвенирование РНК одиночных клеток
- Секвенирование опухолевой ДНК/РНК
- Жидкостная биопсия
- Иммуногенентика
- Кастомизированные панели

Также мы предлагаем сервис по выделению нуклеиновых кислот и биоифнорматический анализ данных секвенирования.

Контактная информация:

Тел.: +7 (995) 502 43 54

Email: **sales-ngseq@ngseq.ru**

kirill.shur@cegat.de

ngseq.ru

Общество с ограниченной ответственностью
"АЛЬГАВИТАПРО"
ИНН 7608035377
ОГРН 1187627012957

CeGaT

CAP ACCREDITED
COLLEGE of AMERICAN PATHOLOGISTS

DAkkS Deutsche Akkreditierungsstelle D-ML-13206-01-00

БИОХИМИЧЕСКИЙ
БАЗАР

www.biohim.store

Динамично развивающаяся компания Биохимический Базар (ООО «БХБ») занимается комплексным оснащением лабораторий различного профиля.



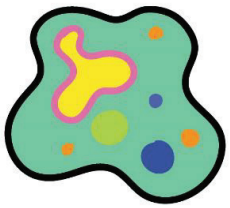


Нашим приоритетным направлением являются лаборатории Life Sciences.



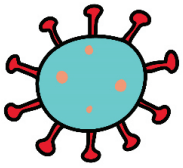
В товарную линейку входят

- **биохимические и химические реактивы:**
  - **• для культур клеток**
  - **• биохимии**
  - **• молекулярной биологии**
  - **• молекулярной генетики**
  - **• микробиологии**
  - **• сыворотки животных**
  - **• антитела**
  - **• рекомбинантные белки**
- **оборудование для лабораторий R&D**
- **расходные материалы**





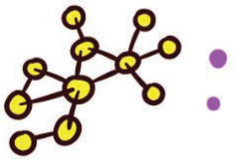
















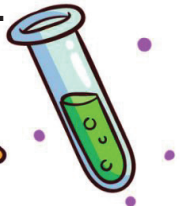
Мы можем предоставить демоверсии приборов в вашу лабораторию!



Новосибирск, 630090, ул. Демакова, д. 23, офис 3.
телефоны: +8 800 700 5910, +7 903 903 4560
e-mail: bxb2021@mail.ru, mail@biohim.store







D-PLANTS R-PLANTS

НАБОРЫ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК И РНК ИЗ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОБРАЗЦОВ НА КОЛОНКАХ

Выделенная ДНК подходит для:
- проведения ПЦР
- генотипирования
- ник-трансляции
- ДНК-секвенирования

Выделенная РНК подходит для:
- проведения ОТ-ПЦР
- РНК-секвенирования
- анализа экспрессии генов



MagPlants

НАБОР ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ НА МАГНИТНЫХ ЧАСТИЦАХ

- подходит для автоматического выделения ДНК.
- есть готовый автоматический протокол для Autopure-96 (Allsheng).

ПРЕИМУЩЕСТВА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ НАБОРОВ:

1. Быстрый и воспроизводимый результат
2. Простой, тщательно описанный протокол
3. Широкий спектр применения для множества исследовательских задач
4. Не требует использования фенола и хлороформа

D-SOILS

НАБОР ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК ИЗ ПОЧВЫ

- подходит выделения ДНК из твердых и жидких образцов почв (в том числе ила с высоким содержанием жидкости).

Набор содержит уникальный буфер для суспендирования, который обеспечивает высокую сохранность ДНК при гомогенизации.

Закажите наборы на сайте

Оформите заказ с доставкой:
e-mail: sales@biolabmix.ru
Тел: 8 800 600 88 76
www.biolabmix.ru

Biolabmix®

Тезисы докладов

Abstracts



doi 10.18699/PlantGen-2025-36

Адаптация *Arabidopsis thaliana* к повышенным дозам УФ-В излучения: роль сигнальных путей и световых рецепторов

А.А. Абрамова[1]*, М.В. Верещагин[1], П.П. Пашковский[1], Вл.Д. Креславский[2]
[1] *Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия*
[2] *Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук, Пущино, МО, Россия*
* *ann.kiedis2000@gmail.com*

Цель: Изучение роли ключевых регуляторных белков *HY5, SPA* и *BIC1,2* в механизмах адаптации *Arabidopsis thaliana* к УФ-В-стрессу. Основное внимание уделялось их роли в активации фотозащитных реакций, изменению фотосинтетической активности, устьичной проводимости и биосинтеза флавоноидов через сигнальный путь *UVR8* и взаимодействие с криптохромами.

Материалы и методы: Объект исследования: модельное растение *A. thaliana* (дикий тип и мутанты, дефицитные по генам *HY5, SPA, BIC1,2*). Экспериментальные условия: воздействие УФ-В излучения (311 нм) в контролируемых условиях. Измерение фотосинтетической активности (параметры Y(II), Fv/Fm) и нефотохимического тушения флуоресценции (NPQ) с помощью mini-PAM II. А также устьичной проводимости, скорости фотосинтеза и транспирации с помощью Ciras 3. Оценка экспрессии генов, связанных с антиоксидантной защитой и биосинтезом флавоноидов. Исследование взаимодействия белков *HY5, SPA* и *BIC1,2* с *UVR8* и криптохромами с использованием методов молекулярной биологии. Анализ уровня антоцианов и фотосинтетических пигментов спектрометрически.

Статистическую обработку данных проводили с использованием стандартных статистических методов для оценки достоверности результатов.

Результаты: Исследование показало, что белок *HY5,* активируемый *UVR8*, играет ключевую роль в адаптации *A. thaliana* к УФ-В-стрессу. *HY5* индуцирует экспрессию генов, отвечающих за биосинтез флавоноидов (например, *CHS*), что способствует защите клеток от повреждений, вызванных УФ-В излучением. Кроме того, *HY5* регулирует работу фотосистемы II, поддерживая баланс между поглощением и рассеиванием световой энергии, что подтверждается изменениями параметров Y(II) и Fv/Fm. Белок *SPA*, взаимодействуя с комплексом *COP1*, стабилизирует *HY5*, предотвращая его деградацию. Это способствует активации фотозащитных механизмов и накоплению антиоксидантов, что снижает окислительный стресс у растений. Белки *BIC1,2* играют важную роль в регуляции взаимодействия между *UVR8* и криптохромами. У нокаут-мутантов *bic1,2* нарушение этого взаимодействия приводит к гиперактивации UVR8-зависимых сигнальных путей. Это сопровождается усилением экспрессии генов антиоксидантной защиты (*APX, GPX*) и увеличением синтеза флавоноидов. Одновременно наблюдается повышение нефотохимического тушения флуоресценции (NPQ), что защищает фотосистему II от повреждений, вызванных избыточным светом. У мутантов *hy5* отмечается резкое снижение фотосинтетической активности и недостаточная активация NPQ, что делает их более чувствительными к УФ-В-стрессу. У *spa*-мутантов, несмотря на повышенный уровень флавоноидов, нарушение водного обмена и устьичной регуляции ухудшает их способность адаптироваться к стрессовым условиям. Таким образом, баланс между активацией фотозащитных механизмов и поддержанием фотосинтеза является критически важным для устойчивости растений к УФ-В.

Выводы: Проведенное исследование демонстрирует, что белки *HY5, SPA* и *BIC1,2* играют ключевую роль в адаптации *A. thaliana* к УФ-В-стрессу, координируя фотозащитные механизмы через сигнальный путь *UVR8* и взаимодействие с криптохромами. *HY5,* как основной транскрипционный регулятор, активирует экспрессию генов, отвечающих за биосинтез флавоноидов, и регулирует работу фотосистемы II, поддерживая баланс между поглощением и рассеиванием световой энергии. *SPA* стабилизирует *HY5,* предотвращая его деградацию, что способствует активации фотозащитных механизмов и накоплению антиоксидантов. Белки *BIC1,2* регулируют взаимодействие между *UVR8* и криптохромами, обеспечивая тонкую настройку световых сигнальных путей.

Нарушение работы этих белков у мутантов приводит к значительным изменениям в адаптивных реакциях растений. У мутантов *hy5* наблюдается снижение фотосинтетической активности и недостаточная активация NPQ, что повышает их чувствительность к УФ-В. У *spa*-мутантов, несмотря на повышенный уровень флавоноидов, нарушение водного обмена ухудшает адаптацию к стрессу. У мутантов *bic1,2* гиперактивация UVR8-зависимых путей усиливает экспрессию генов антиоксидантной защиты и синтез флавоноидов, но также повышает риск дисбаланса в работе фотосистемы II.

Полученные данные подчеркивают важность баланса между активацией фотозащитных механизмов и поддержанием фотосинтеза для устойчивости растений к УФ-В. Эти результаты открывают перспективы для разработки стратегий генетической модификации сельскохозяйственных культур, направленных на повышение их устойчивости к УФ-В-стрессу. Это особенно актуально в условиях глобальных климатических изменений, когда растения сталкиваются с повышенным уровнем УФ-излучения.

Финансирование: Исследование поддержано грантом Российского научного фонда, проект № 23-14-00266.

doi 10.18699/PlantGen-2025-37

Поиск генетических маркеров, ассоциированных со снижением устойчивости риса к *Rhizoctonia solani* при избытке азотных удобрений, на основе реконструкции и анализа генных сетей

А.В. Адамовская[1]*, Е.А. Антропова[1], А.Р. Волянская[1], П.С. Деменков[1, 2], И.В. Яцык[1], Т.В. Иванисенко[1, 2], Ю.Л. Орлов[1, 3, 4], H. Chao[5], M. Chen[5], В.А. Иванисенко[1, 2]

[1] *Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия*
[2] *Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия*
[3] *Аграрно-технологический институт Российского университета дружбы народов, Москва, Россия*
[4] *Центр цифрового здоровья, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия*
[5] *Department of Bioinformatics, College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou, China*
* *AdamovskayaAV@bionet.nsc.ru*

Цель: Рис – одна из самых хозяйственно ценных культур, составляющая основную часть рациона питания около половины мирового населения. Азотные удобрения, повышающие урожайность риса, при избытке могут снижать устойчивость растений к заболеваниям, в частности к ризоктониозу, вызываемому *Rhizoctonia solani*. Этот патоген способен уничтожить до 50% урожая, однако механизмы, лежащие в основе снижения устойчивости при избытке азота, остаются малоизученными. В связи с этим особое значение приобретает поиск потенциальных генов-маркеров для повышения устойчивости риса к *Rhizoctonia solani* в условиях избытка азота.

Материалы и методы: В работе был применен комплексный биоинформатический подход, включающий анализ дифференциальной экспрессии генов, реконструкцию генных сетей с использованием базы знаний «Smart Crop» программно-информационной системы ANDSystem, структурно-функциональный анализ полученных сетей, анализ перепредставленности биологических процессов, филостратиграфический анализ и анализ коэкспрессии некодирующих РНК.

Результаты: Идентифицированы гены, дифференциально экспрессирующиеся при инфицировании риса *R. solani*, а также гены, дифференциальная экспрессия которых наблюдалась в условиях избытка азота. Реконструкция и анализ молекулярно-генетических сетей с участием идентифицированных генов выявили три потенциальных механизма, объясняющих снижение устойчивости риса к *R. solani* при избытке азота: OsGSK2-опосредованный путь, SOG1-Rad51-PR1/PR2 путь и путь OsMYB44-OsWRKY6-OsPR1. Реконструкция расширенной генной сети позволила установить потенциальные маркеры для селекции, направленной на повышение устойчивости к патогенам, главным образом к *R. solani*, в условиях избытка азота. Среди маркеров были найдены гены, контролирующие ответ риса на широкий круг стрессов (7 генов) и гены-модуляторы иммунной системы (11 генов). Анализ некодирующих РНК выявил 30 микроРНК, мишенями которых являются гены из реконструированной генной сети. Для выявленных микроРНК были найдены длинные некодирующие РНК с наибольшим индексом коэкспрессии.

Выводы: Проведенное исследование позволило предположить механизмы, объясняющие ухудшение устойчивости риса к грибку *R. solani* на фоне повышенных концентраций азотных удобрений. Полученные результаты создают теоретическую основу для экспериментальных работ по созданию новых сортов риса с повышенной устойчивостью к патогенам в условиях избытка азотных удобрений.

Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ № 23-44-00030.

doi 10.18699/PlantGen-2025-38

Анализ протеома и пептидома мягкой пшеницы *Triticum aestivum* в условиях засухи

Р.А. Азаркина*, А.С. Мамаева, А.С. Макеева, С.И. Ковальчук, И.А. Фесенко
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), Москва, Россия
** khazigaleeva.regina@gmail.com*

Цель: Засуха является одной из самых распространенных причин потерь урожая пшеницы. Адаптационные механизмы растений к засухе включают биосинтез абсцизовой кислоты, синтез дегидринов, ферментов окислительного стресса и осмотиков для повышения водного потенциала, активация и перераспределение аквапоринов и т. д. Важным аспектом этих адаптационных процессов являются белки и пептиды, которые играют ключевую роль в регуляции стрессовых ответов растений. Идентификация этих белков и пептидов, регулирующих стрессовый ответ растений позволит лучше понять механизмы адаптации сельскохозяйственных культур к абиотическим стрессам и, разработать новые агротехнологии для повышения урожайности.
Материалы и методы: Для идентификации регуляторных белков и пептидов, регулирующих ответ на стрессовые воздействия, мы провели анализ протеома и пептидома растений мягкой пшеницы сорта Ленинградская 6 (*Triticum aestivum* L.), в условиях недостатка влаги. Растения пшеницы выращивали на гидропонной установке в среде Хогланда, для имитации недостатка влаги в раствор добавляли 20% ПЭГ (полиэтиленгликоль) и инкубировали в течение 8 дней. С использованием изобарных меток для относительной и абсолютной количественной оценки (iTRAQ) были идентифицированы дифференциально экспрессируемые белки (DEP) в листьях и корнях соответственно. Пептиды были выделены с помощью твердофазной экстракции на DSC-18 с последующим восстановлением дисульфидных связей. Используя масс-спектрометрический анализ, мы проанализировали пулы пептидов, выделенных из культуральной жидкости пшеницы в трех биологических повторах.
Результаты: С использованием метода iTRAQ мы идентифицировали 497 и 157 дифференциально экспрессируемых белков (DEP) в листьях и корнях соответственно. В листьях наблюдалось повышение экспрессии белков, связанных с ответом на стресс, таких как окислительный стресс и ответ на экстремальную температуру, в то время как в корнях выявлены белки, ассоциированные с реакцией на дефицит воды, морфогенезом анатомической структуры и метаболическими процессами серосодержащих соединений. Анализ пептидома корней показал наличие 2294 эндогенных пептидов, являющихся фрагментами около 500 белков, большинство из которых были вовлечены в катаболизм клеточной стенки, межклеточную сигнализацию и ответ на стресс. Кроме того, мы также идентифицировали 9 членов семейств малых секретируемых пептидов (SSPs).
Выводы: Таким образом в нашей работе были проанализированы DEP и экстраклеточные пептиды пшеницы в условиях засухи. Результаты исследования предоставляют важные кандидаты для дальнейшего их функционального анализа, что может способствовать разработке новых стратегий повышения устойчивости растений к засухе.
Финансирование: Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда, грант № 23-66-10013.

doi 10.18699/PlantGen-2025-39

Роль генотипов растений в процессе поглощения углекислого газа атмосферы

Е.Г. Александров
Институт генетики, физиологии и защиты растений МГУ, Кишинев, Республика Молдова
alexandrov.eugeniu@gmail.com

Цель: Оценка потенциала поглощения углерода из атмосферы генотипами виноградной лозы внутривидового и межвидового происхождения с использованием метода кривой светового насыщения для фотосинтеза, что позволяет выделить генотипы растений с потенциальной устойчивостью к климатическим факторам и повышенной возможностью поглощения углерода из атмосферы.

Материалы и методы: Для проведения данного исследования были отобраны генотипы винограда внутривидового происхождения группы: *Vitis vinifera* L. ssp. *sativa* D.C., такие как: Мускат Александрийский, Совиньон, Каберне-Совиньон и т. д., и генотипы межвидового происхождения *V. vinifera* L. ssp. *sativa* D.C. × *Muscadinia rotundifolia* Michx.), такие как: Аметист, Александрина, Августина и т. д. Определение способности поглощения углекислого газ из атмосферы проводилось с помощью фитомонитора ПТМ-48А, представляющего собой автоматическую систему, оснащенную четырьмя последовательно работающими камерами, закрепленными на листьях. Временной период оценки активности физиологических факторов составил 72 последовательных часа. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием компьютерной программы Statistics 10 (Stat sof INC, США) и Microsoft Excel 2010.

Результаты: Достаточно эффективным, но в то же время и прибыльным способом снижения уровня углеродного газа в атмосфере являются лесные, сельскохозяйственные угодья, зеленые зоны и т. д. В этом случае эффективность поглощения углерода этими угодьями зависит от генотипа используемого растения, поэтому необходимы генотипы растений, обладающие повышенным потенциалом улавливания углекислого газа из атмосферы. Согласно расчетам инвентаризации парниковых газов, установлено, что в Республике Молдова лесные угодья играют решающую роль в поглощении парниковых газов из атмосферы, что составляет около 62%. При этом лесные земли занимают площадь около 450 тыс. га (13,6% территории страны). Площадь сельскохозяйственных угодий составляет около 1 015 693 га (около 75% площади страны). По оценкам, около 40% сельскохозяйственных земель деградированы и приносят урожайность ниже своей производительной способности. Основными причинами деградации почв являются: неиспользование генотипов растений, адаптированных к климатическим факторам данной местности, несоблюдение севооборота, сокращение посевов кормовых и бобовых культур, вырубка лесов и полезащитных полос и т. д. Продолжающаяся деградация сельскохозяйственных земель резко снижает возможности получения адекватных урожаев. Среднегодовая температура за период 2002–2024 гг. составляет 10,8 °C, также, сравнивая ее со среднегодовой температурой, нормой, рассчитанной для территории Республики Молдова, получаем, что она увеличилась на 1,33 °C. В результате оценки интенсивности фотосинтетической деятельности генотипов винограда внутривидового происхождения *V. vinifera* L. ssp. *sativa* D.C. установлено, что у сорта Совиньон средняя интенсивность фотосинтеза составляет 2,2 мкмоль(CO_2)/м^2*с; Мускат Александрийский – 1,7 мкмоль(CO_2)/м^2*с и т. д. У ризогенных межвидовых генотипов винограда *V. vinifera* L. ssp. *sativa* D.C. x *M. rotundifolia* Michx. было установлено что интенсивность фотосинтеза: BC_3-580 – 4,3 мкмоль(CO_2)/м^2*с; Августин – 3,8 мкмоль(CO_2)/м^2*с; Аметист – 4,8 мкмоль(CO_2)/м^2*с; Александрина – 3,1 мкмоль(CO_2)/м^2*с. Кроме того, эти генотипы выращиваются на собственных корнях, обладают повышенной приспособляемостью к климатическим факторам. При этом они имеют коэффициент поглощения углерода из атмосферы в два раза выше по сравнению с генотипами внутривидового происхождения *V. vinifera* L. ssp. *sativa* D.C.

Выводы: Среднегодовая температура за период 2002–2024 гг. составляет 10,8 °C, по сравнению со среднегодовой температурой, нормой, рассчитанной для Республики Молдова, отметим, что это увеличилось на 1,33 °C. Коэффициент поглощения углерода у межвидовых генотипов *V. vinifera* L. ssp. *sativa* D.C. × *M. rotundifolia* Michx.: Аметист – 4,8 мкмоль(CO_2)/м^2*с; BC_3-580 – 4,3 мкмоль(CO_2)/м^2*с; Августин – 3,8 мкмоль(CO_2)/м^2*с; Александрина – 3,1 мкмоль(CO_2)/м^2*с; внутривидовых генотипов *V. vinifera* L. ssp. *sativa* D.C.: Совиньон – 2,2 мкмоль(CO_2)/м^2*с; Мускат Александрийский – 1,7 мкмоль(CO_2)/м^2*с и т. д. Межвидовые генотипы винограда обладают двойным коэффициентом поглощения углерода из атмосферы по сравнению с внутривидовыми генотипами, а также повышенную приспособляемость к климатическим факторам.

Финансирование: Исследования финансировались согласно программе: 011102. Расширение и сохранение генетического разнообразия, улучшение генофондов сельскохозяйственных культур в условиях изменения климата.

doi 10.18699/PlantGen-2025-40

Минисателлиты в геномах цитрусовых культур и возможность их использования для молекулярного маркирования

О.С. Александров
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия
olegsandrov@gmail.com

Цель: Минисателлиты – это широко распространенные тандемные повторы ДНК в геноме с длиной мономера от 10 до 100 п.н. Высокая изменчивость локусов минисателлитов делает их привлекательными для разработки молекулярных маркеров. Использование минисателлитов в качестве маркеров осуществляется в соответствии с тремя стратегиями: маркирование расщепленной геномной ДНК зондами на основе минисателлитов; амплификация с праймерами, основанными на последовательностях самих минисателлитов; амплификация с праймерами, разработанными для границ выше и ниже локуса минисателлитов. Цель данной работы заключалась в поиске минисателлитов в геномах цитрусовых культур и оценки их использования для молекулярного маркирования согласно третьей выше описанной стратегии.
Материалы и методы: Поиск минисателлитов производился с помощью программ Tandem Repeats Finder (TRF) и GMATA в геноме лимона (сорт Xiangshiu) и с помощью TRF в геноме апельсина (сорт Valencia). Подбор праймеров и электронная ПЦР (e-PCR) осуществлялась с помощью GMATA.
Результаты: С помощью программы TRF в геноме лимона было найдено 8472 минисателлита со всеми длинами мономера от 10 до 100 п.о. Больше всего было выявлено минисателлитов с длиной мономера 10 п.о. (607 повторов), а меньше всего (по 3 повтора) с длиной мономера 89, 95 и 98 п.о. Для 4067 минисателлитов удалось подобрать праймеры для проведения ПЦР согласно третьей стратегии маркирования. С помощью программы GMATA в геноме лимона было найдено 135 минисателлитов. Длины мономера у этих минисателлитов варьировали от 10 до 36 п.о. с шагом в одну пару оснований, а также встречались единичные минисателлиты с длинами мономера 42, 52, 56 и 68 п.о. Для 56 повторов были разработанные праймеры.
Ввиду низкой эффективности программы GMATA для поиска минисателлитов далее для поиска в геноме апельсина использовалась только TRF. Было найдено 4270 минисателлитов с длинами мономера от 10 до 100 п.о. (за исключением 65-, 91- и 98-нуклеотидных мономеров). Наиболее распространенными были повторы с 10-нуклеотидными мономерами (287 повторов), как и в случае с лимоном. Реже всех встречались минисателлиты с длиной мономера 85, 88 и 89 п.о. (по 2 повтора). Для 2580 повторов удалось подобрать праймеры согласно третьей стратегии.
Изучение разработанных праймеров проводилось методом e-PCR с использованием в качестве матрицы как генома, в котором были найдены минисателлиты, так и геномов других видов цитрусовых. Проведение e-PCR с исходным геномом позволило отобрать из большого количества маркеров однолокусные, что очень важно, так как они являются наиболее перспективными. Результаты e-PCR на других геномах цитрусовых можно описать следующим образом: были минисателлитные маркеры, которые работают и на других геномах, оставаясь однолокусными, были и те, которые давали большее количества мест отжига или совсем не отжигались. Проведение обычной ПЦР *in vitro* с некоторыми маркерами (выборка составила около 30 маркеров) показало, что результаты e-PCR не всегда соответствуют результатам обычной ПЦР, хотя в целом тренд на отбор однолокусных маркеров является правильным и позволяет использовать большинство из отобранных с помощью e-PCR маркеров для генотипирования образцов изучаемого вида цитрусовых растений и их сородичей.
Выводы: Из двух использованных программ для поиска минисателлитов наиболее продуктивна TRF, хотя возможность поиска в GMATA существует, несмотря на то что данная программа разрабатывалась для поиска микро-, а не минисателлитов. Чаще в изученных геномах лимона и апельсина встречаются минисателлиты с длиной мономера от 10 до 36 п.о. Метод e-PCR является эффективным для отбора перспективных однолокусных маркеров. Полученный в ходе работы набор данных может быть использован для маркирования образцов цитрусовых растений, паспортизации сортов, их дальнейшей идентификации, верификации коллекций, картирования геномов цитрусовых, насыщения уже созданных карт и т. д.
Финансирование: Исследование поддержано Российским научным фондом, проект № 23-16-00234, https://rscf.ru/project/23-16-00234/.

doi 10.18699/PlantGen-2025-41

Современные отечественные разработки в области молекулярно-генетической диагностики растений

Я.И. Алексеев[1, 2], А.А. Шварцев[1]*, С.А. Савинова[1], М.Л. Конышева[1], Ю.А. Монахова[1], В.А. Володин[2]
[1] *Научно-производственная фирма «ООО Синтол», Москва, Россия*
[2] *Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия «Магарач» Российской академии наук, Ялта, Россия*
* *alexey.sva@yandex.ru*

Цель: Одной из ключевых и активно развивающихся отраслей сельского хозяйства в настоящее время является виноградарство, где большое значение уделяется совершенствованию и созданию высокоадаптивных и конкурентоспособных сортов. Исследование происхождения и оценка сортов по комплексу хозяйственно ценных признаков составляют основу эффективного отбора доноров для селекции.

Материалы и методы: Применение технологии массового параллельного секвенирования – наиболее перспективный подход для расширения возможностей исследования. Метод позволяет проводить одновременный анализ большого массива данных, точную идентификацию ключевых хозяйственно ценных признаков и создавать базу данных для целенаправленного подбора родительских пар для эффективной селекции.

Для разработки набора на основе литературных данных были подобраны и протестированы 109 пар праймеров к фрагментам 20 генов, полиморфизмы в которых отвечают за проявление таких признаков как бессемянность, метаболизм терпеноидов, цвет ягод, время цветения, ширина грозди масса и текстура ягод. В качестве референсного генома использовали сборку Pinot Noir из базы NCBI GenBank (GCF_030704535.1). В качестве исследуемого материала использовали сорта винограда из коллекции ВНИВиВ «Магарач» РАН.

Выделение ДНК проводили с использованием станции автоматического выделения Колибри (ООО «Синтол», Россия) с набором реагентов «Сорб-ГМО-Б-Автомат» (ООО «Синтол», Россия). Все пары праймеров были разделены на девять мультиплексных реакций. Классическую ПЦР проводили с использованием набора «2,5× Реакционная смесь для проведения ПЦР-РВ» (ООО «Синтол», Россия), с дополнительным внесением по 1 мМ Mg2+ и dNTP и единой для всех пар праймеров программой амплификации. Визуализацию продуктов амплификации проводили методом горизонтального гель-электрофореза.

Для последующего массового параллельного секвенирования девять мультиплексных реакций объединяли в одну. Концентрацию полученных пулов измеряли с использованием набора «СинКвант/HS/ДНК» (ООО «Синтол», Россия). Подготовку библиотеки осуществляли с использованием набора реагентов SyntEra-DNA (ООО «Синтол», Россия). Секвенирование ДНК проводили на секвенаторе MiSeq (Illumina, США) с использованием набора реагентов MiSeq Reagent kit v2 Nano на 500 циклов. Анализ проводили из расчета 50-кратного покрытия для каждого образца, что составляет всего 1% от производительности ячейки. Оценку качества полученных в результате секвенирования прочтений проводили с помощью программ FastQC и MultiQC. Обрезку технических последовательностей проводили, используя программу Trimmomatic.

Результаты: По результатам данного анализа получена информация о наличии полиморфизмов в исследуемых генах. Полиморфизмы отбирались по следующим критериям: покрытие не менее 10X, гомозигота по альтернативной аллели, не синонимичная замена, и особое внимание уделяли полиморфизмам, приводящим к нарушению трансляции или к замене аминокислоты в белке. Последующую статистическую обработку полученных результатов осуществляли в приложении RStudio. Финальным этапом разработки стало определение наличия взаимосвязи полиморфизмов с проявлением хозяйственно ценного признака. Система была апробирована на 21 сорте винограда. Предварительный анализ подтвердил связь между фенотипическим проявлением признака (цвет ягод) и наличием/количеством полиморфизмов в определенных позициях. Продолжается изучение корреляции полученных генетических данных с остальными фенотипическими признаками.

doi 10.18699/PlantGen-2025-42

К вопросу таксономии у близкородственных видов рода *Astragalus* секции Cenanthrum Koch

Е.В. Алексеева[1]*, В.А. Скобеева[2], С.С. Зверькова[1]
[1] *Институт естественных наук Бурятского госуниверситета им. Д. Банзарова, Улан-Удэ, Россия*
[2] *Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*
** astragal65@mail.ru*

В настоящее время все больше внимания привлекают ресурсные растения, в частности лекарственные, используемые при многих заболеваниях в практике восточной, тибетской и китайской медицине. Так, особый интерес вызывают представители рода *Astragalus* секции Cenanthrum Koch, близкородственные виды: *Astragalus propinguus* Schischk. *(*на территории Бурятии и Иркутской области), *Astragalus membranaceus* Fish. (на территории Восточного Забайкалья), *Astragalus mongholicus* Bunge (в Бурятии Кяхтинский район, Монголия), различающиеся по опушению плодов, высоте и форме зубцов чашечки венчика.

По химическому составу данные виды считаются аналогом женьшеня, особенно ценны корни, хотя все части растений содержат множество полезных веществ: сапонины, сахарозы, астрагаланы, алкалоиды, кумарины, дубильные вещества, флавоноиды, способны накапливать селен. Полезные свойства этих астрагалов изучали многие исследователи Монголии, России, Китая. Первые описания *A. mongholicus* в китайских трактатах датированы V в., траву называли «Хунчир», настоем корней лечили только высокородных мужчин, женщинам категорически запрещалось давать, считаются мощными адаптогенами, иммуностимулирующими, имеют противоопухолевую активность. В том числе у *A. membranaceus* выявлены важные свойства: эффективность при стресс индуцированных состояниях, влияние на подвижность сперматозоидов, иммуностимулирующие. Из экстракта отвара у *A. mongholicus* выявлено новое лекарственное вещество с широкой психотропной активностью для лечения невротических расстройств. В монгольской народной медицине применяется как общеукрепляющее, тонизирующее, повышающее физическую работоспособность, а также как ранозаживляющее.

Каждый из этих видов входит в состав флор в виде самостоятельных единиц (Флора Центральной Сибири, Определитель растений Бурятии, Флора Монголии), считаются викарирующими видами. Они связанны с Маньчжурским центром видообразования, тип ареала южносибирско-монгольско-китайский. Во «Флоре Китая» в данной секции насчитывается 59 видов; среди них *A. mongholicus* Bunge имеет 11 близких видов синонимов, не выделенных в отдельные систематические единицы (в том числе три наших исследуемых вида, и *Astragalus penduliflorus* Lamarck). Ранее, нами подробно изучались экология и биоморфология этих видов, также проводились исследования на уровне ценопопуляций. По нашим данным биоморфологического анализа и анатомического исследования листа трех видов астрагалов можно сделать вывод, что в процессе длительного эволюционного развития виды хорошо адаптированы к аридным климатическим условиям Бурятии, Забайкальского края, Северной Монголии. Относятся к переходной группе растений – ксеропетрофиты, устойчивы к дефициту воды, освоили горные степи с каменисто-щебнистыми почвами. Выраженные гелиофиты, хорошо развивающиеся в условиях повышенной солнечной инсоляции, с резкими температурными перепадами в период весеннего отрастания, развития и созревания плодов, семян. По жизненной форме длинностержневые травянистые поликарпики, гемикриптофиты с каудексом – для запаса питательных веществ и заложения почек возобновления. Размножение только семенное. Таким образом, данные виды имеют сходные биоморфы, одинаковы по экологии и биологии развития с высокой экологической пластичностью.

С целью выявления степени родства между данными видами по молекулярным маркерам было проведено секвенирование внутренних транскрибируемых спейсеров ITS1 и ITS2 образцов астрагала перепончатого *Astragalus propinquus*, собранных на территории Республики Бурятия (окр. г. Улан-Удэ) в 2024 году. Последовательности спейсеров астрагала перепончатого показали 99% сходство с последовательностями *A. penduliflores*, *A. skytropos*, *A. yunnanensis*, *A. membranaceus* и *A. mongolicus* из базы данных NCBI.

На основании наших данных мы можем выдвинуть предположение, что *A. propinquus*, *A. membranaceus, A. penduliflorus* и *A. mongolicus* являются скорее локальными вариаритетами, а не репродуктивно изолированными видами.

Основные публикации авторов по теме

1 Алексеева Е.В. Эколого-биологические особенности *Astragalus propinquus Schischk.* в Западном Забайкалье. Улан-Удэ: Изд-во Бурятского госуниверситета, 2004
2 Алексеева Е.В., Буянтуева Л.Б. Биология развития *Astragalus mongholicus* Bunge. *Ученые записки Забайкальского государственного гуманитарно-педагогического университета им. Н.Г. Чернышевского*. 2012;42:7-11
3 Алексеева Е.В. Экологические адаптации *Astragalus mongholicus* Bunge. *Самарский научный вестник*. 2019;8(2):11-13. doi 10.24411/2309-4370-2019-12101

doi 10.18699/PlantGen-2025-43

Хромосомная организация кариотипов *Amaranthus cruentus* L. и *Amaranthus hypochondriacus* L.

А.В. Амосова[1]*, О.Ю. Юркевич[1], Ю.В. Кальнюк[1], А.Р. Семенов[1], Д.В. Соколова[2], А.М. Артемьева[2], С.А. Зощук[1], О.В. Муравенко[1]

[1] *Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, Россия*
[2] *Всероссийский институт растениеводства им. Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург, Россия*
* *amomar@mail.ru*

Цель: *Amaranthus cruentus* L. и *A. hypochondriacus* L. являются хозяйственно ценными культурами широкого применения. Однако кариотипы этих и других видов рода *Amaranthus* изучены недостаточно вследствие небольшого размера их хромосом [1, 2]. Целью данной работы была анализ хромосом *A. cruentus* L. и *A. hypochondriacus* L. с использованием в качестве хромосомных маркеров тандемных ДНК повторов, которые определялись в результате цитогеномного изучения репитомов этих видов амаранта.

Материалы и методы: Впервые нами изучены особенности хромосомной структуры кариотипов трех видовых образцов *A. cruentus* (2n = 34) (Пк-281, Пк-301 и Пк-318) и четырех образцов *A. hypochondriacus* (2n = 32) (Пк-366, Пк-402, Вк-341 и Вк-811) из коллекции ВИР. Для поиска новых хромосомных маркеров, необходимых для идентификации всех пар хромосом в кариотипах, был проведен биоинформатический анализ доступных данных высокопроизводительного секвенирования ДНК изучаемых видов амаранта с применением программ RepeatExplorer, TAREAN и BLAST. На хромосомах образцов обоих видов проведено FISH-картирование меченных флуорохромами олигонуклеотидных зондов, созданных на основе идентифицированных семейств сателлитных ДНК (сатДНК), а также классических молекулярных маркеров: 45S и 5S рДНК.

Результаты: Проведенный биоинформатический анализ данных высокопроизводительного секвенирования ДНК *A. cruentus* и *A. hypochondriacus* позволил нам впервые идентифицировать в репитомах этих видов 3–6 высокодостоверных сатДНК. BLAST анализ выявил высокую гомологию повторов, наиболее представленных в геномах обоих видов амарантов. Анализ рисунков распределения обнаруженных тандемных повторов на хромосомах *A. cruentus* и *A. hypochondriacus* показал, что два повтора *A. cruentus* (AmC4 и AmC9) локализуются кластерно и видоспецифично в кариотипах обоих видов. FISH-картирование комбинации проб 45S рДНК, 5S рДНК, AmC4 и AmC9 на хромосомах изучаемых образцов позволило нам впервые определить пары гомологичных хромосом в кариотипах обоих видов, а также изучить внутри- и межвидовую хромосомную изменчивость по их распределению в кариотипах. Так, было выявлено сходное распределение этих зондов на нескольких хромосомах изученных образцов обоих видов. Вместе с тем, в их кариотипах обнаружены межвидовые различия и внутривидовая вариабельность по локализации кластеров 5S рДНК, AmC4 и AmC9. В частности, у *A. cruentus* выявлено три пары хромосом, несущих в коротком плече кластеры 5S рДНК. В кариотипах образцов *A. hypochondriacus* Пк-366 и Вк-811 кластеры 5S рДНК визуализировались в коротких плечах четырех пар хромосом. Кроме того, у образцов *A. hypochondriacus* Пк-402 и ВК-341 локусы этого маркера обнаружены еще на трех парах хромосом. Выявлены также межвидовые различия по локализации AmC4 и AmC9 на 3-5 парах хромосом.

Выводы: FISH-картирование повторов AmC4 и AmC9 на хромосомах изучаемых образцов *A. cruentus* и *A. hypochondriacus* продемонстрировало их видоспецифичное распределение в кариотипах, что указывает на возможность их использования в качестве новых хромосомных маркеров для сравнительных исследований кариотипов рода *Amaranthus*. Высокая BLAST гомология идентифицированных повторов ДНК, а также сходное распределение кластеров 45S рДНК, 5S рДНК, AmC4 и AmC9 на нескольких парах хромосом у обоих видов амарантов подтверждает их близкое родство и может указывать на наличие общего предкового генома. Полученные результаты предоставляют новые данные о геномных взаимоотношениях внутри рода *Amaranthus* и расширяют знания об организации геномов этих ценных культур, что важно для дальнейших селекционных исследований.

Финансирование: Исследование поддержано Российским научным фондом в рамках проекта № 24-26-00184, https://rscf.ru/project/24-26-00184/.

Список литературы

1 Bonasora M.G., Poggio L., Greizerstein E.J. *CompCytogen*. 2013;7(1):53-61. doi 10.3897/CompCytogen.v7i1.4276
2 Prajitha V., Thoppil J.E. *Cytotechnology*. 2018;70:95-101. doi 10.1007/s10616-017-0100-9

doi 10.18699/PlantGen-2025-44

Фенотипирование зерновок пшеницы для установления связи с комплексом количественных признаков

Т.С. Аниськина[1]*, Е.Н. Баранова[1, 2]
[1] *Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина Российской академии наук, Москва, Россия*
[2] *Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия*
* *tatianiskina@gmail.com*

Цель: используя фенотипирование по изображениям (ImageJ) и статистический анализ, количественно определить симметрию, округлость и поперечную асимметрию зерновок пшеницы и выявить наличие взаимосвязей с компонентами урожайности и качественными параметрами.
Материалы и методы: объектом исследования являются генотипы мягкой пшеницы (*Triticum aestivum*). Определяли высоту растений (см), количество растений (шт./м^2), количество стеблей (шт./м^2), коэффициент кущения, массу снопа (г), массу зерна с растения (г), массу зерна с колоса (г), коэффициент хозяйственного использования, массу 1000 зерен (г), натуру (г/л) и урожайность (т/га), устойчивость растений к снежной плесени, мучнистой росе, бурой ржавчине, стекловидность зерна, содержание белка и клейковины. Для определения параметров зерновки использовали программу ImageJ, оценивали длину, ширину, площадь и периметр. Массу зерновки определяли на аналитических весах с точностью до 0,0001 г. Затем зерновку разрезали в средней части и измеряли расстояния от ее краев до оси симметрии с точностью до 0,001 мм, где 1a,b – длины плеч от пересечения перпендикуляра с касательной (осью симметрии) к долям половинок зерновки пшеницы на срединном разрезе; 2a,b – длины плеч от перпендикуляра к самым широким участкам долей половинок зерновки пшеницы; 3a,b – длины сегментов максимального расстояния внутренних углов складки (вентральной борозды) от точки пересечения оси симметрии с плоской частью вентральной борозды между половинками долей зерновки пшеницы; от 4a,b – длины плеч перпендикуляра в точке пересечения оси симметрии с плоской частью вентральной борозды между половинками долей зерен пшеницы; 5a,b – длины биссектрис, идущих от перпендикуляра в точке пересечения оси симметрии с плоской частью вентральной борозды между половинками долей зерен пшеницы. Индексами 1–5 являются соотношения соответствующих длин. Величина асимметрии зерен рассчитывалась как среднее арифметическое значение показателей относительной асимметрии зерен по вышеуказанным перпендикулярам. Статистический анализ проводили в программе SPSS Statistics 25. Использовали метода Колмогорова–Смирнова, коэффициенты вариации признаков, ANOVA с апостериорным критерием Дункана, анализ Спирмена, методы построения уравнений регрессии.
Результаты: Анализ корреляционных связей между характеристиками зерновки и компонентами урожая показал, что индекс 5 был тесно и достоверно связан с содержанием клейковины, индекс 4 – с натурой и высотой растений, индекс 3 – с коэффициентом кущения и индекс 1 – с высотой растений. Между индексом 2 и стекловидностью зерновки обнаружена сильная обратная зависимость. Масса 1000 зерен достоверно и сильно коррелировала с периметром зерновки и средней массой зерновки. Размер зерновки имеет обратную зависимость с ее площадью поперечного сечения.
Наличие достоверных корреляций позволяет составить прогностические модели уравнений. Установлено, что измерение даже только двух показателей позволяет прогнозировать высоту растений на 77,6% и коэффициент кущения на 84%. Индекс 2 находится в обратной зависимости от стекловидности зерна, то есть при увеличении индекса 2 эндосперм теряет прочные связи крахмальных зерен с белком и становится более крахмалистым, а значит, мука уже не будет первоклассной. Изменение индекса 5, который отвечает за нижнюю часть среза зерна, связано с прямым сильным изменением клейковины.
Выводы: в данной работе впервые показана взаимосвязь между индексами формы зерна пшеницы и компонентами урожая. Показатели формы зерна продемонстрировали низкие коэффициенты вариации (до 10%), поэтому можно предположить, что эти признаки стабильны в устойчивых линиях и сортах. Мы предполагаем, что применение этих признаков будет полезно для идентификации сортов (паспортизации). Создание такой картотеки индексов формы зерна, вероятно, снизит затраты на идентификацию сортов с помощью электрофореза белков зерна. Кроме того, возможность прогнозирования высоты растений по индексам формы зерна позволит заблаговременно корректировать норму высева и выбирать оптимальный участок для размещения (размещение высокорослых зерновых культур на ветреном склоне приводит к полеганию). Эти результаты вносят ценный вклад в область фенотипирования растений, особенно в связи с быстрым развитием высокопроизводительных технологий.
Финансирование: Исследование поддержано госзаданием № 122042700002-6.

doi 10.18699/PlantGen-2025-45

Поиск генов-мишеней TAL-эффекторов *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* у крестоцветных культур

Ю.А. Антакова[1, 2]*, В.В. Таранов[1]
[1] *ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия*
[2] *ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет», Москва, Россия*
** julia.antakova@gmail.com*

Цель: Сосудистый бактериоз – одно из наиболее экономически значимых заболеваний крестоцветных, приводящее к значительным потерям урожая. Сосудистый бактериоз поражает все культивируемые виды семейства капустные и обнаружен почти во всех странах, где овощные капустные культуры выращиваются в коммерческих целях. Это заболевание вызвано бактериями *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc). Фитопатоген поражает растения на всех стадиях развития. Одним из факторов патогенности бактерий рода *Xanthomonas* является система секреции III типа (T3SS), используемая для секреции эффекторных белков в клетки хозяина. Эффекторы, подобные активаторам транскрипции (TALE), действуют как специфичные факторы транскрипции растений. Они связываются с промоторной областью генов хозяина и активируют экспрессию генов-мишеней. Гены-мишени TALE также называются генами восприимчивости. Активация экспрессии генов восприимчивости TALE является необходимым условием заражения для некоторых видов *Xanthomonas*. Но роль TALE в развитии сосудистого бактериоза капустных остается недостаточно изученной. Цель данной работы – идентификация и анализ TAL-эффекторов бактерий *X. campestris* pv. *campestris,* а также поиск генов восприимчивости TALE в геномах различных видов семейства капустные для лучшего понимания механизмов патогенности и разработки методов защиты сельскохозяйственных культур.
Материалы и методы: TALE состоит из 3 доменов. N-концевой участок отвечает за секрецию и транслокацию в клетку хозяина, С-концевой – содержит сигнал ядерной локализации и домен активации транскрипции. Центральный ДНК-связывающий домен TALE состоит из ряда высоко консервативных тандемных повторов 33–35 аминокислот. Каждый повтор содержит вариабельные остатки в положениях 12, 13 (RVD), которые опосредуют связывание ДНК и определяют специфичность связывания. Каждый повтор связывает один нуклеотид, и порядок повторов определяет последовательность ДНК, с которой связывается эффектор. Нуклеотиды, с которыми предпочтительно свяжутся различные RVD, были определены экспериментально, что позволяет предсказать мишени TALE в геноме растения. Для идентификации и анализа TALE в геномах Xcc использовались инструменты TALE Prediction и TALE Analysis набора приложений AnnoTALE, для прогнозирования предполагаемых генов восприимчивости в геномах растений семейства капустные использовался инструмент PrediTALE.
Результаты: Было проанализировано 682 генома Xcc, доступных в базе данных NCBI. 547 из них были секвенированы методами, которые дают короткие прочтения (например, Illumina), непригодные для сборки последовательностей TALE, содержащих большое количество повторов. Из 135 штаммов, секвенированных методами с длинными прочтениями, 48 (36%) содержали TALE. Из них 44% содержали 1 TALE, 25% – 2, 17% – 3, 12% – 4, 2% – 5 TAL-эффекторов. Было проанализировано географическое происхождение растений, из которых были выделены штаммы Xcc, имеющие TALE, частота встречаемости TALE в штаммах, заражающих различные сорта растений, а также типы и количество повторов, содержащихся в TAL-эффекторах. Наиболее распространенным классом TALE оказался TalEN6, содержащийся в 27% штаммов, имеющих TALE, из различных регионов мира: Новой Зеландии, Бельгии, США, Украины, Нидерландов, Канады, Австралии и Китая. Также был проведен анализ геномов различных видов капустных, выявлены предполагаемые гены-мишени TALE. 64% штаммов Xcc не имели TALE, но успешно заражали растения-хозяева. Активация генов-мишеней TALE не является необходимой для поражения растения сосудистым бактериозом, но TALE встречаются очень широко. Возможно, TALE позволяют расширить круг хозяев, то есть заражать сразу несколько видов капустных.
Выводы: Проведены идентификация и исследование TALE в геномах *X. campestris* pv. *campestris*. 36% штаммов содержат TAL-эффекторы, причем большая их часть содержит более одного TALE. TALE, по-видимому, не являются основным фактором патогенности Xcc, однако штаммы, имеющие TALE, очень распространены. Требуются дальнейшие исследования генов восприимчивости, активируемых TALE, для понимания роли TAL-эффекторов в развитии сосудистого бактериоза.
Финансирование: Исследование поддержано Министерством науки и высшего образования Российской Федерации, проект № 075-15-2023-582.

doi 10.18699/PlantGen-2025-46

Изучение виромов картофеля (*Solanum tuberosum* L.) в России

А.Д. Антипов, В.В. Таранов, М.В. Лебедева*
ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия
** marilistik@mail.ru*

Цель: Для картофеля на сегодняшний день известно около 50 разных вирусов, и это не предел. Работы по изучению растительных метагеномов показывают, что присутствие вирусов в растениях – это нормальное состояние и зачастую растения способны регулировать свои виромы. Однако картофель при выращивании размножают вегетативно, что приводит к накоплению вирусов в поколениях и снижению урожайности и качества клубней. Картофель культивируется по всему миру, а основными переносчиками его вирусов являются разные насекомые, которые часто бывают полифагами. Это приводит к тому что местные виды насекомых, местные растительные вирусы, картофель и вирусы картофеля адаптируются друг к другу. В России основными способами диагностики вирусов картофеля являются ИФА, ИГХ и методы на основе ПЦР. В то время как комплексно исследовать виромы можно только с помощью подходов высокопроизводительного секвенирования, однако таких работ в России было очень мало и всего в нескольких областях.
Материалы и методы: В 2023–2024 гг. нами были собраны образцы картофеля из разных регионов России: Приморский край, Тульская, Владимирская, Брянская области. Образцы собирались как в промышленных посадках, так и в личных подсобных посадках населения. Из образцов выделялась РНК и готовились библиотеки для высокопроизводительного секвенирования. В транскриптомах идентифицировались вирусные последовательности. После этого присутствие конкретного вируса в растении валидировалось с помощью ПЦР и секвенирования по Сэнгеру.
Результаты: Исследованы виромы растений картофеля из разных регионов России.
Выводы: Наиболее распространенным вирусом, представленным во всех регионах, является PVY. Однако изоляты вируса из разных областей сильно отличаются друг от друга по штаммовому составу. В том числе были найдены рекомбинантные варианты между разными штаммами, не описанные ранее. Для других вирусов характерна более выраженная регионоспецифичность. Кроме того, часто встречались случаи смешанной инфекции PVY с другими вирусами.
Финансирование: Исследование поддержано грантом Российского научного фонда № 23-76-01066.

doi 10.18699/PlantGen-2025-47

Изучение функций гена MtWOX2 у *Medicago truncatula*

А.М. Артемюк*, В.Е. Творогова, Е.Ю. Красноперова, Л.А. Лутова
Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия
** nastyaart2004@gmail.com*

Цель: WOX (WUSCHEL-related homeobox) – семейство гомеодомен-содержащих транскрипционных факторов растений, регулирующих пролиферацию и дифференцировку клеток в различных тканях. Ген *WOX2 Arabidopsis thaliana*, экспрессируясь в яйцеклетке, а также в апикальном домене зародыша, регулирует деление клеток в ходе эмбриогенеза. *Medicago truncatula* (люцерна усечённая) – растение семейства бобовые, модельный объект для изучения соматического эмбриогенеза. Настоящая работа посвящена изучению функций ортолога *WOX2* у люцерны – гена *MtWOX2*. Основной задачей работы на настоящее время является получение линии с потерей функции этого гена с помощью систем редактирования генома.
Материалы и методы: Для получения растений *M. truncatula* с потерей функции гена *MtWOX2* использовали агробактериальную трансформацию листовых эксплантов линии люцерны R108 конструкцией для нокаута гена *MtWOX2* на основе вектора pHSE401. Для создания линии использовали полученные семена растений-регенерантов поколения T0. Растения последующих поколений генотипировали на присутствие аллелей *MtWOX2* с мутацией. Часть растений, содержащих мутантную аллель, затем высаживались в почву для получения семян.
Для создания конструкции для индуцируемого вырезания трансгенной последовательности с использованием Cre/LoxP системы использовалась система многоуровневого клонирования MoClo технологии Golden Gate.
Анализ на наличие мутантных аллелей проводили с использованием секвенирования фрагмента гена *MtWOX2* по Сэнгеру и веб-инструмента ICE CRISPR Analysis Tool (Synthego).
Результаты: Среди растений поколения T0 были идентифицированы носители мутантных аллелей *MtWOX2*. От некоторых из них были получены и генотипированы потомки. В результате удалось получить две линии, несущие в гетерозиготном состоянии различные аллели *MtWOX2* с мутацией, приводящей к его нокауту.
Для проверки возможности комплементации потери функции *MtWOX2* и индуцируемого «выключения» работы этого гена мы планируем использовать Cre/LoxP систему и создаем кассету, фланкированную сайтами LoxP, которая будет содержать ген *MtWOX2* под собственным промотором, а также ген рекомбиназы Cre под контролем промотора, индуцируемого при повышенной температуре.
Выводы: Получены две линии люцерны, несущие мутации в гене *MtWOX2* в гетерозиготном состоянии. Для дальнейшего исследования функций *MtWOX2* разрабатывается система комплементации и индуцируемого выключения этого гена.
Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ № 25-26-00218 «Адаптация регуляторов развития растений для биотехнологии с помощью методов геномного редактирования».

doi 10.18699/PlantGen-2025-48

Валидация молекулярных маркеров локусов устойчивости ячменя к возбудителю сетчатой пятнистости

О.С. Афанасенко[1]*, Н.В. Мироненко[1], Н.М. Лашина[1], И.В. Розанова[2], Е.И. Кырова[1], Ю.С. Никольская[1], А.А. Зубкович[3]

[1] *Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург, Россия*
[2] *Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург, Россия*
[3] *Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию, Жодино, Республика Беларусь*
** olga.s.afan@gmail.com*

Возбудитель сетчатой пятнистости листьев аскомицет *Pyrenophora teres* Drechs. f. *teres* (*Ptt*) относится к эпифитотийноопасным патогенам ячменя. Разработка эффективной генетической защиты базируется на наличии генетически разнообразных доноров генов качественной и количественной устойчивости.

Цель: Верификация, выявленных нами в GWAS (Novakazi et al., 2019; Rozanova et al., 2020), SNP-маркеров локусов устойчивости на хромосомах ячменя 2H и 4H, по ко-сегрегации устойчивости к *Ptt* и молекулярных маркеров (ММ).

Материалы и методы: Для скрещивания и получения расщепляющихся популяций F_2 был использован восприимчивый к *Ptt*, продуктивный сорт ячменя Tatum и пять устойчивых образцов ячменя (номера по каталогу ВИР): к-8829, к-8877, к-14936, сорт Zolo и к-30341, у которых SNP-гаплотипы нескольких маркеров ассоциировались с локусами устойчивости на хромосомах 2H и 4H. Для изучения ко-сегрегации по устойчивости к *Ptt* и выявленных полиморфных маркеров в каждой гибридной популяции были отобраны 10 устойчивых и 10 восприимчивых линий. В связи с тем что SNP-гаплотипы изучаемых образцов были ассоциированы также с локусами устойчивости на хромосомах 3H и 6H (Novakazi et. al., 2019), для оценки ко-сегрегации были использованы, разработанные нами ранее ММ QTL устойчивости на этих хромосомах.

Результаты: С использованием девяти патотипов *Ptt* показана различная степень расоспецифической устойчивости изучаемых образцов. Фактическое расщепление во всех комбинациях скрещиваний не соответствовало простому наследованию признака устойчивости, как при объединении класса с промежуточными реакциями с классом устойчивых, так и с классом восприимчивых растений, что свидетельствовало о наличии нескольких генетических детерминант устойчивости у изучаемых образцов. Разработаны праймеры для 12 маркеров на хромосоме 4H, находящихся в интервале 50.00 – 50.40 cM, 58942545 – 6769230205 п.н. и для 8 маркеров на хромосоме 2H в интервалах 72.20 – 72.40 cM, 560049575 – 560716546 п.н.; 85.00 cM, 587000056 и 117.00 – 119.00 cM, 623785167 – 623870953 п.н. Для изучения полиморфизма родительских компонентов скрещиваний и расщепляющихся популяций использовали три подхода: фрагментный анализ маркеров с использованием праймеров со специфичным 3'-концом, конвертацию в CAPS-маркеры, основанных на рестрикционном анализе продуктов амплификации маркеров и конкурентная аллель-специфичная ПЦР (KASP). Полиморфизм по наличию продуктов амплификации у изучаемых генотипов ячменя выявлен для восьми маркеров на хромосоме 4H и для двух на хромосоме 2H. Во всех гибридных популяциях не обнаружено полное соответствие фенотипа устойчивости с наличием/отсутствием ММ на хромосоме 4H, что может быть связано (1) с экспрессией других QTL на хромосомах 2H и 6H и (2) рецессивного характера наследования QTL устойчивости на хромосоме 4H, то есть все гомозиготные по восприимчивости растения и остальные, гетерозиготные по аллелю устойчивости растения, попали в класс восприимчивых. Гипотезу рецессивного наследования QTL устойчивости на хромосоме 4H подтверждает совпадение SNP-гаплотипов устойчивых и восприимчивого родителей и гомозиготных и гетерозиготных гибридных растений при использовании CAPS и KASP маркеров.

Выводы: Полученные данные свидетельствуют, что при сложном наследовании устойчивости к гемибиотрофным патогенам ячменя установить совпадение фенотипа устойчивости и наличия ММ в расщепляющихся популяциях затруднительно из-за влияния на проявление устойчивости других QTLs и возможного рецессивного характера наследования устойчивости. Это не исключает возможности пирамидирования малых генов при обязательном контроле фенотипа устойчивости.

Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ № 24-26-00072.

doi 10.18699/PlantGen-2025-49

Изучение взаимосвязи проявления признаков биохимического состава плодов и урожайности у форм томата (*Solanum lycopersicum*) с различным комплексом аллелей качества плодов

О.Г. Бабак[1]*, Е.В. Дрозд[1], К.К. Яцевич[1], Н.В. Анисимова[1], Н.А. Мартиновская[1], И.Г. Пугачева[2], А.Г. Хмарский[2], Т.В. Никонович[2], М.М. Добродькин[2], А.В. Кильчевский[1]

[1] *Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

[2] *Белорусская государственная орденов Октябрьской Революции и Трудового Красного Знамени сельскохозяйственная академия, Могилевская обл., Горки, Республика Беларусь*

* *O.Babak@igc.by*

Цель: Изучение сопряженности проявления признаков продуктивности и высокого накопления пигментов для создания гибридов F_1, сочетающих высокие урожайность и концентрацию каротинов и антоцианов в плодах томата (*Solanum lycopersicum*).

Материалы и методы: 10 гибридов F_1 и 7 родительских линий томата с комплексом аллелей, детерминирующих накопление пигментов в целом: *DET1* (*high pigment dark green, hp-2^{dg}*), *GLK2 (uniform ripening, U, u*), *SGR1* (*green flesh3, gf-3*), *LeNac-Nor* (*nonripening, Nor^{wt}, nor*); ликопина: *NSY* (*old gold crimson*, *og^c*; *beta*, *b*); антоцианов *SlMyb12* (*Y, yellow, y*), *Anthocyanin1* (*Ant1, ant1)*, *Anthocyanin2 (An2-Aft, Myb75*), *Anthocyanin2-like (An2-like-Aft, an2-like*) *Atroviolacium* (*Atv, atv*). Оценка общего содержания каротинов и суммы антоцианов проводилась спектрофотометрическим методом на стадии биологической спелости. Оценка содержания общего количества каротинов проводилась с использованием мякоти нижней части плодов, антоцианов – кожицы плодов. Сборы урожая осуществлялись с интервалом 7 дней, рассчитывали основные элементы урожайности (ранняя урожайность, товарная урожайность, общая урожайность, масса плода). Особенности характера проявления признаков накопления каротинов и антоцианов, а также урожайности у гибридов F_1 оценивали по значениям степени доминирования, истинного гетерозиса.

Результаты: На основе ранее созданных с использованием методов молекулярного маркирования форм томата получены гибриды F_1 для защищенного грунта и проведена их комплексная оценка. В качестве материнских линий использованы контрастные по аллелям, связанным с накоплением антоцианов формы: Октябрята (*b, Y, Ant1, An2-Aft, An2-like-Aft, atv, U, hp-2^{dg}, Ph3*) и ТХ-144 (*b, Y, ant1, Sp, Myb75, an2-like, Atv, u, Ph3, Mi-1.2, Cf4*). Накопление антоцианов в кожице плодов у данных форм составляло в 2024 году 1471,4 и 147.2 мг/100 г сырой массы кожицы плода (смкп), накопление каротинов – 8.3 и 8.6 мг/100 г сырой массы плода (смп) соответственно. Отцовскими линиями были 4 формы с аллелями, обеспечивающими общее высокое накопление пигментов (*hp-2^{dg}, U*, *gf-3*), а также ликопина (*og^c*): ЛОР1, ЛОР2, ЛОР3, ЛОРG1; и одна форма ЛОРN$_M$, содержащая наряду с указанными аллель *nor*, связанный с низким накоплением пигментов. Содержание каротинов у отцовских форм составляло 11.6, 15.3, 28.7, 26.1 и 2.2 мг/100 г смп соответственно. Содержание антоцианов у них было в пределах 119.4–221.1 мг/100 г смкп. Содержание каротина у гибридов F_1 было в пределах 4.2–21.1 мг/100 г смп, антоцианов – 63.1–1113.8 мг/100 г смкп. У гибрида F_1 Октябрята × ЛОРN$_M$ значения содержания каротинов и антоцианов были одновременно максимальными среди изучаемых гибридов. Значения признаков ранней урожайности у гибридов F_1 находились в пределах: 0.21–1.56 кг/м^2, товарной – 3.77– 9.58 кг/м^2, общей – 4.06–10.83 кг/м^2, массы плода – 31–83 г. Показано, что наличие аллеля лежкости *nor* в гетерозиготном состоянии у изучаемых гибридов не снижало количество каротинов и антоцианов в плодах. Показано снижение значений товарного и общего урожая у форм с комплексом целевых аллелей, связанных с накоплением каротиноидов и антоцианов в гомозиготном состоянии и соответственно с большей концентрацией каротинов и антоцианов в плодах томата.

Выводы: Представлены данные по содержанию каротинов и антоцианов в плодах томата в зависимости от комбинации аллелей качества плодов. У большинства гибридов F_1 наследование признаков «общее накопление каротинов» и «общее накопление антоцианов» проявлялось по типу неполного доминирования и доминирования в сторону уменьшения значения признака. Наследование ранней, товарной и общей урожайности преимущественно проходило по типу сверхдоминирования в сторону увеличения признака, массы плода – по типу промежуточного наследования. Подтверждено максимальное накопление каротинов у форм с различными аллелями структурных генов пути биосинтеза каротиноидов (*b, og^c*) в сочетании с аллелями *U*, *gf*-3 и *hp-2^{dg}* в генотипе. Повышенное накопление антоцианов связано с наличием в генотипе аллелей MYB ТФ *Ant1, An2-Aft, An2-like-Aft*, *atv*. При этом большое количество аллелей, связанных с повышением накопления пигментов в плодах томата в генотипе, чаще всего сочетается с уменьшением урожайности форм, что подчеркивает важность формирования конкретного комплекса целевых аллелей в гибриде.

doi 10.18699/PlantGen-2025-50

Получение и изучение линий удвоенных гаплоидов озимой мягкой пшеницы с чужеродным генетическим материалом *Aegilops umbellulata* и *Aegilops speltoides*

В.И. Басов*, Э.Р. Давоян, А.А. Кресамова, А.Н. Зинченко, Е.И. Чиркова, В.А. Бибишев, И.В. Бебякина, Р.О. Давоян

ФГБНУ Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко, Краснодар, Россия

** basovv.i.2142@gmail.com*

Цель: Получение методом культуры пыльников и изучение линий удвоенных гаплоидов озимой мягкой пшеницы с чужеродным генетическим материалом *Aegilops umbellulata* и *Ae. speltoides*.

Материалы и методы: В работе были использованы 12 интрогрессивных линий мягкой пшеницы *Triticum aestivum*, несущих чужеродный генетический материал от *Ae. speltoides* (S) – T1DS.1DL-1S; T2DS.2DL-2SL; T5BS.5BL-5SL; 4D(4S) и *Ae. umbellulata* (U) – T7US-7DS.7DL. переданный от синтетической формы RS7 (BBAAUS). Отбор колосьев проводился в полевых условиях на экспериментальных делянках НЦЗ им. П.П. Лукьяненко.

В работе использовались питательные индукционные среды Pot4mf с добавлением сахарозы (90 г/л) и гельрита (1 г/л) с несколькими вариантами гормонального состава: 2,4-D – 1.5 мг/л, α-НУК – 0,3 мг/л, кинетин – 0,5 мг/л – среда № 1; 2,4-D – 0,7 мг/л, α-НУК – 0,3 мг/л, кинетин – 0,7 мг/л – среда № 2 и регенерационной среде Мурасиге-Скуга (MS) без добавления гормонов. Пыльники (30–50 штук с колоса), предположительно несущие микроспоры в одноядерной сильновакуолизированной стадии были помещены на оба варианта индукционных сред в чашки Петри. Далее производилась короткая шоковая высокотемпературная обработка с дальнейшим понижением температуры для инкубации. Полученные эмбриоиды, достигшие размера 1–1,5 мм, переносились на среду MS и инкубировались в условиях фитотронной камеры. Зеленые регенеранты перемещались на яровизацию в пробирках на 45 дней. После чего проводилась пересадка в грунт для доращивания до стадии кущения. Определение плоидности производилось методом анализа длинны замыкающих клеток устьиц. Растения, определенные как гаплоиды, подвергали обработке колхицином (колхицина 0,2% в 2%-м водном растворе диметилсульфоксида (DMSO)). Эффективность андрогенеза оценивалась на основе следующих показателей: число эмбриоидов на 100 пыльников, число альбиносных регенерантов на 100 пыльников, число зеленых растений на 100 пыльников.

Результаты: Для отобранных генотипов были получены зеленые регенеранты и альбиносы, а также ризогенные эмбриоиды. При получении линий, удвоенных гаплоидов наблюдались различия в отзывчивости исследуемых генотипов на условия культивирования пыльников. Так, на среде № 1 средний показатель количества эмбриоидов на 100 пыльников составил 2,17, и варьировал от 0 (у линии 55/23 до 10,32 у линии 49/23, а на среде № 2 составило 2,9 и варьировало от 0 у линий 19/23, 31/23 до 16,7 у линии 54/23. Несмотря на то что на среде № 2 получено в среднем больше эмбриоидов, выход зеленых растений на этой среде был на 27,3 процента меньше, чем на среде № 1. Линия 54/23 имела схожие результаты по получению зеленых регенерантов на обеих питательных средах (12 на среде № 1, 15 на среде № 2), однако среднее число зеленых растений на 100 пыльников на используемых средах оказалось малым (0,23 на среде № 1 и 0,17 на среде № 2). Стоит отметить, что для всех генотипов наблюдалось очень низкое образование альбиносов в среднем на 100 пыльников, 0,06 для среды № 1 и 0,05 для среды № 2, при этом у них выявлена высокая частота образования ризогенного каллуса (58,4% для среды № 1 и 53,5% для среды № 2). Средний процент образования самоудвоенных растений составил 28,1% (16 из 57 регенерантов были определены как спонтанно удвоенные).

Выводы: В целом, отобранные генотипы проявили низкую способность к андрогенезу. В этой связи для повышения эффективности метода необходимо продолжить работу по оптимизации сред и условий культивирования. В то же время важно отметить, что у пяти линий (19/23, 26/23, 54/23, 55/23 и 60/23) наблюдался высокий процент выхода самоудвоенных растений.

doi 10.18699/PlantGen-2025-51

К вопросу генетического разнообразия *Rhododendron adamsii* Rehder на территории Республики Бурятия

Т.Г. Басхаева[1]*, В.А. Скобеева[2], Е.В. Алексеева[1]
[1] *Бурятский государственный университет им. Доржи Банзарова, Улан-Удэ, Россия*
[2] *Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*
* *baskhaevatg@gmail.com*

Rhododendron adamsii Rahder – ценный ресурсный вид семейства вересковые (Ericaceae), занесенный в Красную книгу Республики Бурятия (2023), а также Иркутской и Амурской областей, Забайкальского, Красноярского, Хабаровского краев, Магаданской, Сахалинской областей. Статус редкости – 2 (сокращающиеся в численности и/или распространении). Статус угрозы: БУ – находящиеся в состоянии, близком к угрожаемому (NT – Near Threatened). Природоохранный статус: II приоритет – необходима реализация одного или нескольких специальных мероприятий. Места обитания и особенности экологии: в высокогорьях на каменистых склонах, изредка в верхней части лесного пояса, густых и сырых лиственничных и кедрово-лиственничных лесах, на гольцах и осыпях. Предпочитает известьсодержащие породы и избегает переувлажненных почв. Образует заросли. На территории Республики Бурятия произрастает в высокогорье (горная система Восточного Саяна, хр. Тункинские гольцы, хр. Хамар-Дабан, хр. Баргузинский, хр. Икатский и др.). Ареал включает территорию Восточной Сибири, Якутии, Восточный и Западный Саян, горы Южной Сибири, Прихубсугулье, центральный Хангай, северо-восточные предгорья Тибета. Вечнозеленый сильно пахучий кустарничек высотой 30–60 см. Листья зимующие, эллиптически-яйцевидные, толсто-кожистые, слегка приостренные, с сильно приятным ароматом, на верхней поверхности сизовато-темно-зеленые, гладкие, слегка лоснящиеся, с белым налетом, на нижней – густо покрыты щитковидными ароматическими железками, которые у молодых листьев светлые, а у перезимовавших ржавые. Железки звездчато надрезаны и богаты эфирными маслами (до 1,6%). Цветки розовые или светло-розовые (почти белые), в густых щитках на коротких ножках. Венчики с длинной трубкой 6–8 мм длиной и коротким плоским отгибом 4–5 мм длиной, в зеве и внутри трубки пушистые. Тычинок пять. Тычиночные нити голые, не превышают трубки венчика. Коробочки покрыты железками и короткими волосками. 2n = 26. *R.*×*burjaticum* Malyschev, являющийся помесью *R. adamsii* Rehder × *R. parvifolium* Adams встречается в субальпийском поясе, реже в верхней полосе лесного и в нижней части альпийского – в болотистых сырых лиственничных редколесьях и в каменистой лишайниковой тундре (хр. Бельский; хр. Китойский: бассейн р. Саган-Сайр; Мунку-Садык: р. Жохой; Джидинское нагорье). Характерно железистое опушение с обеих сторон листьев, железки щитковидные, округлые, не звездчатые. Венчики розовые, с лиливым оттенком (при сушке синеющие), широковоронковидные, более широко раскрытые, чем *R. adamsii*. Трубка венчика 5–6 мм длиной и отгибом 7 мм длиной, в зеве и внутри трубки пушистые. Тычинок 5–10 (чаще 7), нити их при основании волосистые, выдаются из трубки венчика, но не превышающие отгиба. Ароматическое, пищевое и лекарственное растение, хищнически заготавливаемое для коммерческих целей. Населением Бурятии, Тувы, Монголии издревле используется как тонизирующее средство, завариваемое как чай или водные и спиртовые экстракты и настои. В тибетской медицине и медицине народов Сибири, Дальнего Востока и Центральной Азии применяется при сердечно-сосудистых заболеваниях, болезнях мочевыделительной системы, желудочно-кишечного тракта, простудах, ревматизме, онкозаболеваниях. Обычно заготавливаются молодые годичные побеги с листьями (2–3 см), однако могут использоваться и старые облиственные вечнозеленые побеги длиной до 10–15 см. Побеги содержат: олеаноловую, урсоловую кислоты, фенолы, дубильные вещества (6,69%), карденолиды, флавоноиды (мирицетин и кверцитин) 2,12%, гликозиды (арбутин 4,16%), смолы, терпеновые вещества, фитонциды, алкалоиды. Спиртовые вытяжки из листьев растения убивают некоторые патогенные кишечные бактерии, в том числе холерный вибрион, протеобактерии, дифтерийную палочку. Неконтролируемые ежегодные заготовки растительного сырья привели к сокращению численности вида на территории Тункинского национального парка в местах традиционных сборов местными жителями и приезжими заготовителями.

Цель: Сравнение генетического разнообразия популяций *R. adamsii* – в Тункинском и Окинском районах для реализации мер по охране и восстановлению краснокнижного вида.

Материалы и методы: Выделение ДНК у *R. adamsii*, взятого из 8 популяций в Тункинском и Окинском районах, проводили CTAB-методом в трехкратной повторности. Амплификацию транскрибируемых спейсеров ITS1 и ITS2 проводили по следующему протоколу: 1 – 95 °C 10 минут, 2 – 95 °C 10 секунд, 3 – 55 °C – 30 секунд, 4 – 72 °C – 40 секунд, 5 – повторить шаги 2–4 30 раз, 6 – 72 °C – 5 минут.

Результаты: По транскрибируемым спейсерам ITS1 и ITS2 различий между популяциями *R. adamsii* не выявлено.

doi 10.18699/PlantGen-2025-52

Оптимизация приемов хемотерапии земляники садовой на этапе введения *in vitro*

А.А. Батукаев[1, 2]*, Б.Х. Асхабов[1], М.С. Батукаев[1]
[1] *ФГНУ «Чеченский научно-исследовательский институт сельского хозяйства», Грозный, Россия*
[2] *ФГБОУ ВО «Чеченский государственный университет им. А.А. Кадырова», Грозный, Россия*
* *batukaevmalik@mail.ru*

Цель исследований – уточнение оптимальных концентраций цефотаксима для земляники садовой при введении в культуру *in vitro*. Были изучены концентрации цефотаксима 50, 100, 150, 200 мг/л. Хемотерапия является эффективным методом воздействия на развитие растений в условиях их выращивания *in vitro*. Этот метод применяется для оздоровления меристематических клеток земляники садовой и активизации ростовых процессов. Добавление антибиотиков в питательную среду позволяет эффективно бороться с бактериальным заражением. В тех ситуациях, когда возникала необходимость продолжить размножение зараженного материала, что было особенно актуально при ограниченном количестве исходного материала, нами успешно использовалась питательная среда, дополненная антибиотиком цефотаксим (клафоран), который является популярным препаратом в культуре *in vitro*.

При добавлении цефотаксима в питательную среду в концентрации 150 мг/л наблюдалось лишь минимальное (2%) проявление инфекции (r^2 = 0,9696), и максимальное количество (93%) регенерационной активности меристем (r^2 = 0,9997), что подтверждает правильность подбора концентрации антибиотика для достижения наилучшего эффекта. Эта концентрация антибиотика была определена как оптимальная. Даже после последующих субкультивирований бактериальная инфекция не проявлялась, что дало возможность продолжать процесс клонального микроразмножения без риска повреждения растительных тканей и потери ценного посадочного материала. Таким образом, внесение цефотаксима в состав питательной среды в концентрации 150 мг/л оказывает положительное влияние на процесс регенерации меристем земляники садовой не только на этапе ввода в культуру *in vitro*, но и на последующих этапах клонального микроразмножения. На этапе введения в культуру *in vitro* рекомендуется использовать экспланты, которые активно растут или уже прошли фазу физиологического покоя. Чтобы увеличить процент эксплантов, полностью очищенных от инфекции, первые 1–2 субкультивирования следует проводить на средах, ингибирующих развитие патогенной микрофлоры. Для терапии зараженных эксплантов можно целесообразно антибиотик цефотаксим (клафоран), который добавляется в питательную среду в концентрации 150 мг/л.

doi 10.18699/PlantGen-2025-53

Повышение регенерации растений винограда при введении *in vitro*

А.А. Батукаев[1, 2, 3]*, Д.О. Палаева[2], М.С. Батукаев[1]
[1] *ФГНУ «Чеченский научно-исследовательский институт сельского хозяйства», Грозный, Россия*
[2] *ФГБОУ ВО «Чеченский государственный университет им. А.А. Кадырова», Грозный, Россия*
[3] *ОС Дагестанская – филиал «ФГБНУ ФИЦ ВИР им. Н.И. Вавилова», Санкт-Петербург, Россия*
* *batukaevmalik@mail.ru*

Целью наших исследований являлось разработка эффективной регенерационной системы для винограда на этапе введения в культуру *in vitro* с учетом нашего опыта и данных других исследователей. В связи с этим были проведены предварительные эксперименты по апробированию в культуре *in vitro* сочетаний и концентраций регуляторов роста, известных для винограда. Одним из важнейших и неотъемлемых компонентов питательной среды являются регуляторы роста. Их тщательный подбор и выявление оптимальных концентраций позволяют повысить эффективность метода *in vitro*. В настоящее время стандартов культивирования *in vitro* винограда не разработано, однако поиски оптимальных условий микроразмножения продолжаются.

Экспланты винограда сортов Подарок Магарача, Юбилей Платова культивировали на модифицированной питательной среде МС (Мурасиге–Скуга), содержащей различные концентрации БАП и НУК.

Анализ регенерационной активности на 30-е сутки культивирования показал, что наиболее приемлемыми вариантами для получения микропобегов являлись сочетания концентраций: (0.5–2.0) мг/л БАП и (0.01–0,1) мг/л НУК. При этом статистически значимыми были различия в комбинациях (1.0 мг/л БАП + [0,01–0,1] мг/л НУК) и (1.5 мг/л БАП + [0.01–0.1] мг/л НУК) ($p<0.05$). Концентрация 3.0 мг/л и 5,0 мг/л БАП приводила к некоторому торможению регенерационного ответа. Увеличенное содержание в среде БАП до 3.0 и 5.0 мг/л привело к увеличению времени образования почек и побегов. На фоне высоких концентраций цитокининов (БАП и Кинетина) было отмечено образование каллуса, утолщение базальной части черенков. Данный факт свидетельствует об осторожности использования высоких концентраций цитокининов, так как их отрицательное влияние из-за накопления в тканях культивируемых растений проявлялось на последующих этапах культивирования. К тому же в зависимости от генотипа, это происходило на разных этапах размножения *in vitro*. В данном варианте регуляторов роста формировались растительные конгломераты. При повторной пересадке конгломератов на аналогичные питательные среды на 14–21-е сутки не было отмечено формирование побегов на средах, содержащих 1,0 и 1,5 мг/л БАП.

Таким образом, достоверно значимое «регенерационное окно» в рамках изучаемых концентраций сочетания регуляторов роста «Кинетин и НУК» было достаточно узким – в интервале (1,5–2,0) мг/л Кинетина ($p<0.05$). При увеличении концентраций Кинетина наблюдалось образование каллуса, при снижении – формирование растительных конгломератов, что можно объяснить тем, что «низкие» и «высокие» концентрации Кинетина (Кин) были не подходящим для развития меристем. Результаты проведенных исследований показали, что в культуре меристем винограда для индукции прямого побегообразования наиболее эффективным сочетанием регуляторов роста являются: 1,0 мг/л БАП + 0,01мг/л НУК; 1,0 мг/л БАП + 0,1 мг/л НУК; 1,5 мг/л БАП + 0,01 мг/л НУК; 1,5 мг/л БАП + 0,1 мг/л НУК; 1,0 мг/л БАП + 0,1 мг/л ИМК; 1,0 мг/л БАП + 0,2 мг/л ИМК; 1,5 мг/л БАП + 0,1 мг/л ИМК; 1,5 мг/л БАП + 0,2 мг/л ИМК; 1,5 мг/л Кинетин + 0,01 мг/л НУК; 1,5 мг/л Кинетин + 0,05 мг/л НУК; 2,0 мг/л Кинетин + 0,01 мг/л НУК; 2,0 мг/л Кинетин + 0,05 мг/л НУК.

Финансирование: Исследования «Фундаментальные аспекты биотехнологических методов производства оздоровленного посадочного материала винограда» поддержаны Министерством науки и высшего образования Российской Федерации № FNME-2024-0002.

doi 10.18699/PlantGen-2025-54

Оценка полиморфизма заразихи кумской (*Orobanche cumana* Wallr.) в разных локациях России

М.К. Белова[1]*, М.А. Лебедева[1, 2]**
[1] *Научно-технологический университет «Сириус», федеральная территория «Сириус», Краснодарский край, Россия*
[2] *Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*
* *belovamargo@list.ru*
** *m.a.lebedeva@spbu.ru*

Цель: Изучение внутривидового генетического разнообразия *Orobanche cumana* в популяциях из различных регионов России с применением SSR-маркеров.
Материалы и методы: Семена и цветоносы *O. cumana*, собранные в Краснодарском крае, Курской и Ростовской областях. ДНК из растительного материала выделяли с помощью набора от Синтол «Сорб-ГМО-Б», ПЦР-амплификацией SSR-маркеров. В качестве праймеров использовались последовательности, описанные в работе Pineda-Martos и др. (2013), изучавших генетическое разнообразие заразихи на Пиренейском полуострове. Среди выбранных маркеров применялся Ocum-87. Амплификацию проводили в стандартных условиях ПЦР с последующим анализом продуктов двумя методами: гель-электрофорезом и фрагментным анализом. Последний выполнялся в капиллярной системе с применением флуоресцентной метки FAM.
Результаты: Гель-электрофорез ПЦР-продуктов с праймерами Ocum-87 показал наличие одного визуализируемого бэнда около 200 п.о. во всех проанализированных образцах. Однако фрагментный анализ продемонстрировал более высокую разрешающую способность: для образцов из Курской области определены два мажорных пика длиной 178 и 198 п.о., в то время как образцы из сел Морозко и Париж демонстрировали дополнительное наличие продуктов длиной 193 и 195 п.о. Таким образом, профили SSR-маркеров у разных популяций *O. cumana* существенно различаются, несмотря на морфологическое сходство. Полученные данные подтверждают наличие внутривидового полиморфизма и свидетельствуют о генетической разобщенности популяций паразита из разных регионов. Это указывает на перспективность использования SSR-маркеров для идентификации рас *O. cumana* в рамках разработки молекулярно-генетических методов диагностики.
В дальнейшем планируется расширение набора SSR-маркеров и числа исследуемых образцов из различных географических зон с целью более точной оценки генетического разнообразия и последующей разработки специфических молекулярных маркеров, способных дифференцировать расы паразита в почве.
Выводы:
1. Применение SSR-маркеров позволяет выявлять внутривидовой полиморфизм *O. cumana*.
2. Фрагментный анализ демонстрирует различия в длине ПЦР-продуктов между популяциями *O. cumana* из разных регионов, указывая на их генетическую гетерогенность.
3. Полученные различия свидетельствуют о наличии разнообразия заразихи в разных локациях.

doi 10.18699/PlantGen-2025-55

Генотипирование коллекционных образцов ярового ячменя на устойчивость к *Ustilago nuda* (Jens) Kell. et Sw. с использованием ДНК-маркеров

Н.П. Бехтольд*, И.В. Тоцкий, Е.А. Орлова, О.Ю. Шоева
Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
** Telichkinanina@mail.ru*

Для успешной борьбы с болезнями необходим постоянный контроль за уровнем устойчивости находящихся в производстве сортов, а также непрерывная работа по выявлению отличающегося по генам устойчивости исходного материала, и создание на его основе новых сортов с высоким уровнем резистентности к наиболее распространенным в зоне возделывания патогенам. Подбор источников устойчивости к пыльной головне и использование их в селекции являются первостепенными задачами в создании не поражаемых сортов. Одним из эффективных методов создания устойчивых образцов является совместное применение классических приемов селекции, основанных на гибридизации доноров генов устойчивости с реципиентными сортами, и новейших методов отбора с помощью молекулярных маркеров.

Цель данной работы заключалась в изучении устойчивости коллекционных образцов ярового ячменя к пыльной головне с помощью ДНК-маркеров.

Материалы и методы: Полевые эксперименты проводили на изолированном инфекционном фоне фитопатологического участка СибНИИРС – филиала ИЦиГ СО РАН по чистому пару. В условиях жесткого инфекционного фона на фитопатологическом участке было изучено 150 сортов на устойчивость к местной популяции возбудителя *Ustilago nuda*. После полевой фитопатологической оценки были отобраны устойчивые образцы для дальнейшей работы с использованием молекулярных маркеров. ДНК выделяли из молодых листьев ячменя микрометодом с использованием бисульфита натрия ($NaHSO_3$). Концентрацию и чистоту тестируемых образцов определяли с помощью гель-электрофореза. Для генотипирования выбрали и разработали несколько диагностических ДНК-маркеров. Эти маркеры были ассоциированы с генами устойчивости к пыльной головне. Для определения гена устойчивости *Run6* были выбраны сцепленных с данным геном SSR-маркера: Ebmag0541 и Ebmag705. Для выявления гена устойчивости *Run8* был разработан маркер *Run8* на основе полиморфизма, представляющего собой инсерцию 6 п.н. в кодирующей части гена у ряда образцов. Полиморфизм выявлен при работе с геном-кандидатом HORVU1Hr1G087050, чья последовательность была отсеквенирована у ряда образцов.

Результаты: В результате изучения 150 коллекционных образцов ярового ячменя различного эколого-географического происхождения в условиях жесткого инфекционного фона было установлено, что большинство сортов восприимчивы к возбудителю пыльной головни. Параллельное заражение сортов с идентифицированными генами устойчивости позволило выявить наиболее эффективные гены резистентности. Известно более пятнадцати генов *Run*, контролирующих устойчивость к возбудителю *Ustilago nuda*, среди которых в селекционной практике наиболее часто применяют гены *Run*3,6 (сорта Jet, Bonanza, Keystone) и *Run* 8 (Раушан, Эльф, Effendi) определяющие устойчивость к наиболее известным расам пыльной головни. Наши данные подтверждают, что для лесостепи Приобья эффективными генами устойчивости к пыльной головне являются *Run6* и *Run8*, из них ген *Run6* несет полную невосприимчивость к возбудителю. Так при искусственном заражении сорта Jet, Bonanza, Keystone проявили иммунитет, процент поражения равен нолю. Для создания новых перспективных образцов ячменя, несущих гены устойчивости к пыльной головне *Run6* и *Run8*, было проведено генотипирование коллекции ячменя по генам устойчивости к пыльной головне с использованием двух SSR-маркеров для гена *Run6* и фрагментного анализа для гена *Run8.* Данные фрагментного анализа образцов Jet, Banansa и Keystone показали, что эти сорта несут оба устойчивых аллеля по ДНК-маркерам Ebmag0541 и Ebmag705. Образцы Effendi, Эльф и Раушан по литературным данным имеют ген *Run*8, при этом проведенный нами анализ с использованием ДНК-маркеров показал наличие у них устойчивого аллеля гена *Run*8. Образцы Effendi и Раушан, которые по литературным данным имеют ген *Run*8, тем не менее помимо наличия устойчивого аллеля к гену *Run*8, несут также оба устойчивых аллеля к гену *Run*6 по маркерам Ebmag0541 и Ebmag705. Сорт Вестник согласно литературным данным имеет ген *Run*8, однако фрагментный анализ не выявил у него устойчивого аллеля гена *Run*8 и при искусственном заражении в полевых условиях данный сорт поражался на 15,7%.

Выводы: Проведенные исследования по оценке сортов ярового ячменя на устойчивость к возбудителю *Ustilago nuda* с помощью ДНК-маркеров позволяют сделать выводы о перспективности исследований для селекционной работы. Выделенные и используемые в дальнейшей работе сорта, несущие аллели генов устойчивости к пыльной головне обеспечат большую результативность и сокращение селекционного процесса по созданию новых устойчивых сортообразцов и гибридов.

Финансирование: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 25-26-20151, https://rscf.ru/project/25-26-20151/.

doi 10.18699/PlantGen-2025-56

Чистые линии озимой твердой пшеницы: спидбридинг или удвоенные гаплоиды?

Д.О. Бизякина[1]*, В.С. Рубец[1], С. Радзениеце[1], В.М. Нагамова[1], А.О. Блинков[1], А.С. Яновский[2], М.Г. Дивашук[1]

[1] *Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия*
[2] *Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко, Краснодар, Россия*
** dasha.biz@mail.ru*

Цель: сравнить эффективность пяти методов получения чистых линий: 1. спидбридинг (speed breeding); 2. селективная элиминация хромосом; 3. метод изолированных пыльников; 4. метод изолированных завязей; 5. флотирующая культура пыльников.

Материалы и методы: В исследовании использовали три генотипа озимой твердой пшеницы (*Triticum durum* Desf): Цель, Кордон, 3596h56 селекции НЦЗ им. П.П. Лукьяненко. Используемые генотипы являлись гибридами поздних поколений.

В работе были использованы пять различных методов получения чистых линий:

1) Спидбридинг (яровизация при фотопериоде 10 ч день /14 ч ночь, 5 °С, вегетация при 22 ч день/ 2 ч ночь, температура 22 °С днем/17 °С ночь, удаление побегов кущения и использование эмбриокультуры).

2) Селективная элиминация хромосом (опыление пшеницы гаплопродюссером, введение зародышей в культуру *in vitro* на 18 сутки с момента опыления, выращивание зародышей на питательной среде MS с добавлением 0,5 мг/л НУК и 0,5 мг/л кинетина);

3) Изолированные пыльники (стрессовая предобработка колосьев 14 суток при 4 °С, культивирование на среде МС-17, дополненной 2 мг/л 2,4-Д и 0,5 мг/л кинетина; в каждую чашку помимо пыльников добавляли 6–7 завязей);

4) Изолированные завязи (стрессовая предобработка колосьев 14 суток при 4 °С, культивирование на питательной среде Ind M);

5) Флотирующая культура (стрессовая предобработка при 4 °С в течение 7 суток с использованием 0,1 М маннитола, культивирование на питательной среде МС-17 с добавлением 100 г/л фиколла, 1 мг/л 2,4 Д и 1 мг/л 6-БАП и 3 завязей на одну чашку Петри, регенерация на питательной среде 190-2 с добавлением 30 г/л сахарозы, 0,5 мг/л НУК и 0,5 мг/л кинетина).

Результаты: Среди протестированных методов получения чистых линий наименьшей эффективностью отличался метод изолированных завязей, при использовании которого не было получено ни одного растения. Сравнимую эффективность продемонстрировал метод культивирования изолированных пыльников: суммарно по генотипам на твердые питательные среды было высажено 6350 пыльников, из которых было получено 103 каллуса, давшие начало одному растению – альбиносу. Флотирующая культура оказалась эффективнее культур изолированных пыльников и завязей: суммарно по трем генотипам было высажено 9250 пыльников, из которых получены 754 каллуса, давших начало 126 альбиносам и 2 зеленым гаплоидным растениям генотипа 3596h56. Такие проблемы, как высокая генотипзависимость и низкая частота формирования зеленых растений также описаны и другими авторами для данной культуры. Наибольшую эффективность среди методов клеточной биотехнологии продемонстрировал метод селективной элиминации хромосом. После опыления 1000 цветков удалось получить 400 зерновок, среди которых только 40 имели хорошо сформировавшиеся зародыши. В конечном счете были получены 11 растений генотипа Цель и одно растение генотипа 3596h56. Все формирующиеся растения являлись гаплоидными. Регенерация альбиносных растений отсутствовала. Продолжительность создания зеленых гаплоидных растений при использовании флотирующей культуры или селективной элиминации хромосом (от посева донорных растений до уборки семян от самоопыления удвоенных гаплоидов) составляла примерно один год.

При использовании спидбридинга полная вегетация от посева до уборки на одно поколение составляла от 91 до 121 дня в зависимости от генотипа. Это позволяет получать в год от 3 до 4 поколений озимой твердой пшеницы. Для достижения генетической однородности необходимо проводить шесть последовательных посевов, используя односемянный метод отбора. То есть за 2 года, используя спидбридинг, возможно создавать спектр чистых линий озимой твердой пшеницы.

Выводы: Среди пяти протестированных методов для твердой пшеницы наибольшую эффективность по возможному количеству создаваемых чистых линий имеет спидбридинг. С его помощью чистые линии можно создавать за 2 года. Флотирующая культура пыльников и селективная элиминация хромосом позволяют получать единичные зеленые растения за один год. Культура изолированных пыльников и культура изолированных завязей для твердой пшеницы являются крайне неэффективными.

Финансирование: Исследование поддержано Российским научным фондом № 24-16-00274, https://rscf.ru/project/24-16-00274/.

doi 10.18699/PlantGen-2025-57

Увеличение эффективности трансгенных растений-продуцентов путем использования двойного терминатора в экспрессионной кассете

О.В. Битюкова*, В.А. Орлова, М.С. Бурлаковский, В.Д. Тимонин, Л.А. Лутова, М.В. Падкина
Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия
** 79292693255o@gmail.com*

Цель: На сегодняшний день одним из основных недостатков растений как продуцентов рекомбинантных белков остается низкий и нестабильный уровень синтеза целевого белка. Существуют способы увеличения эффективности экспрессии трансгена, среди которых – использование тандема терминаторов. Комбинация терминаторов T35S-TNOS увеличивает экспрессию целевого гена в 18,4 раза по сравнению с использованием одного терминатора TNOS, что связано со снижением вероятности сквозной транскрипции. Конечной целью данной работы является создание трансгенных растений моркови (*Daucus carota* subsp. *sativus* Hoffm.), продуцирующих бычий гамма-интерферон и пригодных к применению в ветеринарии в качестве иммуностимулирующей подкормки, позволяющей уменьшить количество используемых антибиотиков.

Материалы и методы: Первым этапом стало создание плазмиды – компонента системы Gateway, несущей тандем терминаторов T35S и TNOS. Амплификацию проводили с использованием высокоточной ДНК-полимеразы Phusion и праймеров с адаптерами, несущими сайт рестрикции EcoRI (для соединения продуктов путем рестрикции-лигирования) и attB-сайты (для вставки получившегося конструкта в плазмиду pDONR P2R-P3 в ходе BP-клоназной реакции). В дальнейшем методом Multi-site Gateway создали целевой вектор pK4 3GW::p35S::*sIFNGdel*::T35S::TNOS для экспрессии в растениях гена бычьего интерферона-гамма (*sIFNGdel*), модифицированного для устойчивости к протеолитической деградации. Вектор клонировали в клетках *Escherichia coli* штамма DH10β и в дальнейшем в клетках *Agrobacterium rhizogenes* штамма Arqua и *Agrobacterium tumefaciens* штамма AGL1. Работоспособность вектора проверяли на культуре «бородатых корней» моркови сорта Нантская-4, анализ экспрессии трансгена проводили методом ОТ-ПЦР-РВ. Полноценные трансгенные растения получали методом агробактериальной трансформации каллусов, выращенных из зародышей моркови. Растения проверяли методом ПЦР на присутствие трансгена.

Результаты: В процессе исследования создана плазмида – компонент системы Gateway, которая содержит тандем терминаторов T35S-TNOS. С ее помощью получили вектор, содержащий промотор p35S, модифицированный (укороченный) ген бычьего гамма-интерферона (из коллекции лаборатории) и тандем терминаторов T35S-TNOS. Второй вектор, несущий аналогичный ген с одинарным терминатором T35S, также взят из коллекции лаборатории и использовался в качестве контроля. В образцах «бородатых корней» моркови подтверждена экспрессия трансгена и тем самым функциональность двух использованных плазмид; на данном этапе не обнаружено значимых различий между конструкциями с одним и двумя терминаторами. В результате агробактериальной трансформации было получено 45 растений, 44 из которых дали положительный результат в ходе ПЦР-проверки (10 растений содержат вставку с одним терминатором – контрольная группа, 34 – с двумя терминаторами – экспериментальная группа). На данный момент проведена холодовая обработка корнеплодов для стимуляции цветения моркови и в дальнейшем получения удвоенных гаплоидов. Также следующим шагом будет оценка уровня экспрессии трансгена на уровне РНК методом ОТ-ПЦР-РВ, и на уровне белка методом вестерн-блот.

Выводы: В результате проведенного исследования создан вектор для агробактериальной трансформации, содержащий укороченный ген гамма-интерферона быка под контролем промотора p35S и тандема терминаторов T35S-TNOS для высокоэффективной экспрессии. С помощью данной конструкции и аналогичной из коллекции лаборатории (с одним терминатором T35S, для сравнения) получены 44 трансгенных растения моркови. Дальнейшие планы включают селекционные мероприятия для создания гомозиготной линии растений-продуцентов гамма-интерферона и сравнение эффективности экспрессии трансгена с одним и двумя терминаторами на уровне РНК (ОТ_ПЦР_РВ) и белка (вестерн-блот).

Финансирование: Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации на создание научного центра мирового класса «Агротехнологии будущего» (соглашение № 075-15-2022-322 от 22.04.2022).

doi 10.18699/PlantGen-2025-58

Выделение источника высокого содержания хлорофилла у гороха *Pisum sativum* L.

С.В. Бобков*, К.А. Башкирова
Федеральный научный центр зернобобовых и крупяных культур, Орел, Россия
** svbobkov@gmail.com*

Цель: Высокое содержание фотосинтетических пигментов и продолжительное время их функционирования рассматривается в качестве важной предпосылки для создания высокоурожайных сортов сельскохозяйственных культур. Для гороха это особенно актуально вследствие широкого распространения в производстве безлисточковых сортов. Исследование направлено на поиск и выделение источников генетических вариантов, определяющих высокое содержание хлорофилла (*a и b)*, среди образцов *Pisum sativum* L. коллекции ВИР.
Материалы и методы: Содержание хлорофилла (a и b) определяли в прилистниках на первом продуктивном узле в начале и конце периода налива семян у 24 образцов гороха из коллекции ВИР и 20 отдаленных гибридов F_4 ЛУ 153-06 (af, def, det, fa) × к-3370 (elatius). Образцы разного селекционного статуса относились к пяти подвидам *P. sativum* L. Определение содержания хлорофилла проводили в 95% этиловом спирте в соответствии с рекомендациями H.K. Lichtenthaler (1987) и выражали в мг/г сухого вещества. Оптическую плотность экстрактов хлорофилла измеряли на спектрофотометре ПЭ5300В (ПромЭкоЛаб, Россия). Определение отношения содержания хлорофилла a к уровню хлорофиллида a проводили в соответствии с методом S. Harpaz-Saad et al. (2007) в модификации K. Szafrańska et al. (2017). Исследования проводили в 2016, 2017, 2022, 2023 гг. в лаборатории физиологии и биохимии растений ФГБНУ ФНЦ ЗБК (г. Орел, Россия).
Результаты: Выявлен значительный полиморфизм образцов гороха по содержанию хлорофилла (*a* и *b*). В сравнении с современными сортами гороха образец к-3370 дикого подвида *P. sativum* ssp. *elatius* на протяжении 4 лет изучения отличался стабильно высоким содержанием хлорофилла. Этот образец отличался от сортов большей устойчивостью хлорофилла к деградации, на что указывало более высокое отношение содержания хлорофилла *a* к продукту его деградации – хлорофиллиду *a*. Повышенное содержание хлорофилла наблюдалось и у примитивных форм из культивируемых подвидов *transcaucasicum, asiaticum* и *sativum.* Анализ отдаленных гибридов F_4 ЛУ 153-06×к-3370 показал, что содержание хлорофилла *a* изменялось от 3,6 до 6,9 мг/г (среднее значение 5,2 мг/г), а хлорофилла *b* – от 1,7 до 3,4 мг/г (среднее значение 2,4 мг/г) в пересчете на сухое вещество. Изменчивость по содержанию хлорофиллов *a* и *b* (коэффициенты вариации 18,4 и 19,9% соответственно) была достаточной для проведения отбора гибридов с вариантами генов дикого образца к-3370, определяющих высокое содержание хлорофилла. Отбор гибридов F_4 ЛУ 153-06×к-3370 по содержанию хлорофилла *a* позволил разделить популяцию на две группы растений с низким и высоким содержанием указанного пигмента в соотношении 3:1.
Выводы: Образец дикого гороха к-3370 (ssp. elatius) как в начале, так и в завершении периода налива семян отличался наибольшим содержанием хлорофилла (*a и b)*. У этого образца в сравнении с сортами культурного гороха выявлено существенно ($p \leq 0,03$) более высокое отношение содержания хлорофилла a к продукту его распада – хлорофиллиду *a*, что указывало на устойчивость хлорофилла к деградации в период завершения налива семян. Проведен отбор отдаленных гибридов гороха с высоким содержание хлорофилла *a* в популяции F_4 ЛУ 153-06×к-3370.
Финансирование: Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках государственного задания ФГБНУ ФНЦ ЗБК по разделу FGZZ-2022-0003 «Физиолого-биохимическое изучение генетических ресурсов зернобобовых и крупяных культур для использования в селекционном процессе».

doi 10.18699/PlantGen-2025-59

Роль G-бета-подобного белка в контроле клубенькообразования и развития боковых корней у гороха посевного и люцерны усеченной

А.Д. Бовин, О.А. Павлова, А.М. Дымо, Е.А. Долгих*
Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия
** dol2helen@yahoo.com*

Цель: G-бета-подобные белки, структурно сходные с бета-субъединицей гетеротримерного G-белка, играют важную роль в качестве сигнальных регуляторов у растений при контроле роста и развития. С помощью *in situ* гибридизации было показано, что гены, кодирующие эти белки, могут экспрессироваться в клубеньках бобовых при симбиозе, но их роль при этом оставалась невыясненной. Целью настоящей работы являлось изучение участия G-бета-подобного белка (Gbeta-like, GbL) люцерны и гороха в процессе развития симбиоза с ризобиями и формировании корней.

Материалы и методы: Для изучения локализации активности промотора гена *GbL* была получена конструкция на основе вектора pBGWFS7.0 с репортерным слиянием с геном бета-глюкуронидазы (*GUS*). Для экспериментов по подавлению экспрессии гена *GbL* люцерны и гороха методом РНК-интерференции использовали вектор pK7GWIWG2II с фрагментом кДНК гена *GbL*. Для сверхэкспрессии изучаемого гена получили конструкцию *pCaMV35S::GbL* в векторе pB7WG2D. Композитные растения получали с помощью штамма *Agrobacterium rhizogenes* ARqua1, содержащего необходимую конструкцию. Растения выращивали в вермикулите с добавлением среды Fahreus, оценку развития корней и клубеньков производили спустя две недели у люцерны и три недели у гороха.

Результаты: В геноме люцерны усеченной (*Medicago truncatula*) нами был выявлен один ген *MtGbL1* (Medtr8g106790), а у гороха посевного (*Pisum sativum)* два гена *PsGbL1* (Psat7g003840), *PsGbL2* (Psat6g148200), кодирующие G-бета-подобные белки. Анализ протеома корней гороха показал увеличение синтеза PsGbL1 в ответ на инокуляцию ризобиями (24 ч) (Leppyanen et al., 2018). У *Medicago sativa* была показана локализация соответствующих транскриптов в клубеньках (Khan et al., 1997). Это определило наш интерес к изучению роли таких G-бета-подобных белков в регуляции развития симбиоза.

Локализация активности промотора гена *MtGbl1::GUS* (2.4 т.п.о.) *M. truncatula* была связана с развивающимися примордиями клубеньков и боковых корней, а также была выявлена в клубеньках, что соответствовало данным для *M. sativa* (Khan et al., 1997). Для анализа влияния бета-подобного белка на клубенькообразование и развитие корней нами были проведены эксперименты по подавлению экспрессии генов *MtGbL1* и *PsGbL1* помощью РНК-интерференции. В результате у растений люцерны значительно нарушалось образование корней, а редкие образовавшиеся корни не имели клубеньков. У растений гороха в ответ на подавление снижалось число боковых корней и формировались множественные примордии, остановившиеся в развитии. Отдельные клубеньки при этом формировались, что вероятно было связано с присутствием у гороха дополнительного гена *PsGbL2,* что не приводило к столь драматичным нарушениям на фоне РНК-интерференции, как это происходило у люцерны.

Эти данные могли свидетельствовать об участии G-бета-подобных белков в контроле развития симбиотических клубеньков и боковых корней у люцерны и гороха. Мы предположили, что подобные нарушения в развитии этих органов у двух видов бобовых растений могут быть связаны с нарушением гормональной регуляции. Нами был проведен анализ экспрессии генов, контролирующих биосинтез ауксина и ответ растений на ауксин. На фоне подавления *PsGbL1* было выявлено существенное снижение экспрессии генов *PsGH3.1*, регулируемого ауксином, а также *PsARF19a*, участвующего в ответе растений на ауксин и гена *PsWOX13b,* контролирующего процессы морфогенеза у растений.

Сверхэкспрессии гена *MtGbL1* в корнях люцерны приводила к формированию клубеньков с разросшейся корой и удлиненным основанием, напоминающее по строению боковой корень, в этих структурах наблюдали снижение экспрессии *WOX13a* и *WOX13b*. Это также указывало на существенную роль G-бета-подобного белка в контроле морфогенеза клубенька и фитогормональной регуляции, прежде всего с участием ауксина.

Выводы: Результаты наших исследований показали, что G-бета-подобные белки могут участвовать в регуляции морфогенеза клубеньков у растений люцерны усеченной и гороха посевного, оказывая влияние на фитогормоны и ключевые регуляторы развития клубенька. Понимание особенностей сигнальной регуляции этих процессов у бобовых растений позволит использовать эти знания для увеличения продуктивности симбиозов между хозяйственно значимыми культурами растений и ризобиями.

Финансирование: Исследование выполнено за счет гранта РНФ, проект № 24-16-00108.

doi 10.18699/PlantGen-2025-60

Влияние сахарозы на метаболизм проростков табака

Е.М. Богданова[1]*, С.А. Ванисов[2], Г.В. Данелия[2], А.Л. Шаварда[1], М.Ф. Шишова[2], Р.К. Пузанский[1]
[1] *Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия*
[2] *Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*
* *EBogdanova@binran.ru*

Цель: Трофические условия оказывают значительное влияние на метаболизм растений, определяя их рост и развитие. Для культивирования растений часто используют среды с добавлением сахарозы. В настоящем исследовании ставится цель изучить, как различные концентрации сахарозы в питательной среде влияют на рост, массу, содержание белка и метаболизм проростков табака (*Nicotiana tabacum* L.).
Материалы и методы: Для достижения этой цели семена табака сорта Virginia стерилизовали и высевали на питательную среду Мурасиге–Скуга (MS) с различной концентрацией сахарозы: 0 г/л (MS0), 5 г/л (MS5) и 30 г/л (MS30). Проростки выращивали в фитотроне при температуре +25 °C с режимом освещения 16 часов света и 8 часов темноты. Через 3 и 5 недель после посева измеряли сырую массу проростков, определяли содержание белка, а также проводили метаболомный анализ с использованием газовой хроматографии-масс-спектрометрии (ГХ-МС). Метаболиты экстрагировали из замороженного растительного материала, проводили дериватизацию проб для анализа. Для выявления различий в метаболических профилях использовали методы главных компонент (PCA), многомерного шкалирования (MDS) и Random Forest, а также статистические критерии для дифференциально накапливающихся метаболитов (ДМ).
Результаты: Анализ выявил более 300 соединений, из которых около 100 были идентифицированы, а для 50 аннотирован химический класс, и показал сложный паттерн накопления метаболитов, зависящий от возраста и концентрации сахарозы. Спустя 3 недели после посева проростки на среде MS0 отличались меньшей сырой массой и содержанием белка, а также от проростков на средах с сахарозой, где добавление сахарозы стимулировало накопление сахаров, свободных жирных кислот (СЖК) и ацилглицеринов (АГ). Однако при этом наблюдалось снижение накопления ряда аминокислот и вторичных соединений, включая никотин, 2-оксоглутарат и фумарат, в то время как MS30 характеризовалась большим накоплением фитостеринов. Спустя 5 недель MS0 по-прежнему отличалась от других вариантов меньшей сырой массой и содержанием белка. Сахароза стимулировала накопление моносахаридов, а также сахарозы. Также сохранялся, хотя и ослабевал, положительный эффект на накопление СЖК и АГ. Уровни ряда аминокислот снижались при наличии сахарозы, но в этот раз некоторые из них показали рост, в том числе глутамат, и некоторые вторичные соединения также показали больший уровень. Сравнение проростков на средах MS5 и MS30 показало, что большая концентрация сахарозы (MS30) способствовала накоплению вторичных соединений, стеринов, СЖК, АГ и сахарозы, но при этом наблюдались меньшие уровни азотосодержащих соединений и интермедиатов цикла трикарбоновых кислот.
Финансирование: Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 23-24-00393.
Благодарности: Авторы выражают благодарность ресурсным центрам СПбГУ и БИН РАН за предоставленное оборудование.

doi 10.18699/PlantGen-2025-61

Создание экспрессионного вирусного вектора с использованием синтетической ДНК последовательности

А.А. Болотина[1]*, П.Ю. Меркулов[1, 2], И.В. Киров[1, 2]
[1] *Московский физико-технический институт, Долгопрудный, Россия*
[2] *Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия*
** boloti.anya@yandex.ru*

Цель: Разработка подходов к созданию вирусных векторов растений и оценка их репликации в *Nicotiana benthamiana*.
Материалы и методы: ДНК последовательность генома вируса мозаики бамбука (BaMV) была синтезирована и клонирована в вектор pUC57. Затем ДНК последовательность BaMV была клонирована в бинарный вектор pGD121 под контролем 35S-промотора методом TEDA (T5 exonuclease-dependent assembly). Для оценки функциональности полученной конструкции растения *N. benthamiana* были агроинфильтрированы BaMV. Контрольным вариантом служили растения, инфильтрированные лишь буферным раствором. Наличие и уровень вирусных РНК в образцах оценивали с помощью обратной транскрипции с последующей ПЦР (ОТ-ПЦР).
Результаты: Результаты показывают, что клонирование последовательности BaMV в бинарный вектор pGD121 с помощью рестрикции и лигирования оказалось малоэффективным, что, вероятно, связано со значительной протяженностью геномной вставки (около 8000 п.н.). В отличие от этого подхода, метод TEDA обеспечил успешную сборку полной конструкции BaMV в бинарном векторе и позволил получить пять плазмид со вставкой ожидаемого размера. Проведенное нами нанопоровое секвенирование выделенных плазмид продемонстрировало, что только один из пяти клонов не содержал однонуклеотидных полиморфизмов (SNP), по-видимому, возникших на этапе ПЦР-амплификации. Все пять клонов были использованы для агроинфильтрации растений. Наиболее выраженные симптомы вирусной инфекции, включая хлороз и угнетение роста, а также хорошо детектируемый уровень вирусной РНК (подтвержденный методом ОТ-ПЦР), мы наблюдали у растений, агроинфильтрированных агробактериями, содержащими плазмиду со вставкой без мутаций.
Выводы: высокую эффективность клонирования крупных вирусных вставок в бинарные векторы по сравнению с классическим лигированием по «липким концам». Современные методы синтеза протяженных последовательностей могут позволить быстро получить экспрессионный вирусный вектор, используя лишь знания о самой последовательности вирусного генома.
Финансирование: Исследование выполнено при поддержке программы «Приоритет 2030» (МФТИ, Физтех).

doi 10.18699/PlantGen-2025-62

Биологический эффект химического мутагена фосфемида на зерновых культурах (*Triticum aestivum* L., *Hordeum vulgare* L.) в Северном Зауралье

Н.А. Боме[1]*, А.А. Белозерова[1], Н.Н. Колоколова[1], Л.И. Вайсфельд[2], Д.А. Базюк[1], С. Салех[3], А.В. Черепанов[1]

[1] *Тюменский государственный университет, Тюмень, Россия*
[2] *Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук, Москва, Россия*
[3] *Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Северного Зауралья – филиал Федерального исследовательского центра ТюмНЦ Российской академии наук, пос. Московский, Россия*
** bomena@mail.ru*

В условиях климатических изменений, нередко негативно сказывающихся на отрасли растениеводства в виде различных стрессов в течение вегетационного периода, необходимо увеличение генетического разнообразия культурных растений. Метод экспериментального мутагенеза является перспективным, зарекомендовавшим себя как в России, так и за рубежом. Использование химических мутагенов позволяет расширить количество исходного материала для отбора форм сельскохозяйственных растений с нужным сочетанием признаков в связи с увеличением спектра доступной генотипической изменчивости. **Цель:** Изучение мутационной изменчивости пшеницы и ячменя, индуцированной химическим мутагеном фосфемидом для использования в селекционно-генетических программах. **Материалы и методы:** Семена исходных образцов яровой пшеницы *Triticum aestivum* L. (Скэнт 3, var. *lutescens*, Россия, Cara (var. *erythrospermum*, Мексика), гибрид Скэнт 3 х Cara) и ячменя *Hordeum vulgare* L. (к-30453, Зерноградский 813, var. *erectum*, Россия; к-22934, Dz02-129, var. *nigripallidum*, Эфиопия; к-30630, C.I.10995, var. *sinicum*, Перу) обрабатывали химическим мутагеном фосфемидом (ди-(этиленимид)-пиримидил-2-амидофосфорная кислота), синтезированный химическим факультетом МГУ им. М.В. Ломоносова, в концентрации 0,01 и 0,002% (экспозиция 3 часа). Создание новых генотипов и их оценка осуществляется в рамках экспериментов в сотрудничестве с Институтом биохимической физики им. Н.М. Эмануэля. Полевые испытания проводятся на экспериментальном участке биостанции ТюмГУ «Озеро Кучак» (Нижнетавдинский район, Тюменская область, подтайга низменности). Почва окультуренная, дерново-подзолистая, супесчаная по гранулометрическому составу, pH – 6,6, гумус – 3,67%. В качестве стандартов использованы сорта, рекомендованные для выращивания в Тюменской области – Тюменская 25, Тюменская 29 и Новосибирская 31 (пшеница), Ача и Абалак (ячмень). Дополнительная экологическая оценка выделенных перспективных образцов проводится (с 2024 г.) в двух агроэкологических зонах Тюменской области (северная лесостепь – Тюменский район, южная лесостепь – Армизонский район).

Результаты: По показателям чувствительности (всхожесть семян, выживаемость растений, биологическая устойчивость) в первом (M_1) поколении, мутабильности во втором (M_2) и третьем (M_3) поколениях (частота и спектр мутаций) определены концентрации мутагена и продолжительность обработки семян. На основе фенотипирования мутантных популяций по морфологическим, биохимическим и физиологическим признакам отобраны 29 мутантных форм пшеницы и 44 – ячменя по характеристикам колоса (форма, крупность, окраска), соломины (прочность, окраска), флагового листа (ширина), скорость созревания. В настоящее время эффективность оценки мутантов (M_5–M_8) достигается с использованием современного полевого и лабораторного оборудования (оптический счетчик SPAD 502 (Япония), климатическая камера SANYO MLR-351H (Япония), локальная метеостанция iMetos IMT 300 (Pessl Instruments, Австрия), метеостанция Amtast AW006 (США), обеспечивающего быстрый сбор данных о продукционном процессе растений и факторах окружающей среды. Ускоренное определение толерантности образцов к стресс-факторам (засоление, засуха, пониженные температуры) в моделируемых условиях проводится на провокационных фонах. В качестве информативных критериев используются признаки: морфологические (высота и устойчивость растений к полеганию, линейные размеры и площадь флагового листа), физиологические (динамика накопления и деградации хлорофилла в листьях), биохимические (содержание белка в зерне), признаки продуктивности (число и масса зерен в колосе, длина и масса колоса, длина остей, количество колосков в колосе, масса 1000 зерен). По результатам многолетнего полевого испытания лучшие образцы рекомендованы для использования в селекционно-генетических программах. На примере ячменя показано, что оценка взаимодействия «генотип–среда» с применением селекционных индексов, тесно связанных с урожайностью, позволяет выявить перспективные мутанты, устойчивые к воздействию стресс-факторов окружающей среды.

Выводы: Применение нового мутагена фосфемида позволило увеличить возможность отбора ценного селекционного материала на основе фенотипирования признаков разных категорий в моделируемых экспериментах и полевом испытании.

Финансирование: Исследования выполнены в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № FEWZ-2021-0007 «Адаптивная способность сельскохозяйственных растений в экстремальных условиях Северного Зауралья».

doi 10.18699/PlantGen-2025-63

Молекулярно-генетическое изучение генов биосинтеза антоцианов, контролирующих окраску зерновки у ржи

А.Н. Буланов[1]*, Е.А. Андреева[1, 2], П.А. Зыкин[2], Г.Д. Решетникова[2], А.В. Евстигнеева[1], С.Б. Нопимбонг Нипимбо[2], Н.В. Цветкова[2], А.В. Войлоков[1]

[1] *Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия*

[2] *Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

* *an.bulanov20002014@gmail.com*

Цель: Формы культурных злаков с обогащенным антоцианами зерном представляют интерес для селекции, что связано с положительными эффектами этих соединений на здоровье человека. В отличие от других злаков, гены биосинтеза антоцианов у ржи (*Secale cereale* L.) изучены недостаточно. Мы идентифицировали в геноме ржи структурные гены-кандидаты для описанных ранее мутаций безантоциановости (*vi1*, *vi2*, *vi3* и *vi6*), а также ключевые регуляторные гены (*Vs*, *Rc-4R* и *ScPAC1-6R*), предположительно контролирующие накопление антоцианов в перикарпе и/или алейроне. Однако с молекулярно-генетической точки зрения особенности функционирования этих генов в зерновке у ржи остаются неизученными. Ранее мы обнаружили, что мутации безантоциановости *vi4* и *vi5* аллельны и затрагивают ген фиолетовозерности *Vs*, для которого был выявлен высокий уровень межлинейного нуклеотидного полиморфизма и который не экспрессируется у безантоциановой линии vi4 и желтозерной линии L7, но проявляет высокую транскрипционную активность у фиолетовозерных линий Ф5-63 и RMu12. Целью данной работы является изучение структуры и функции ключевых генов, определяющих антоциановую пигментацию зерновки у ржи.

Материалы и методы: В работе использовали инбредные линии Петергофской генетической коллекции, различающиеся по пигментации перикарпа: безантоциановые линии vi1–vi6, желтозерную линию L7 с антоциановой пигментацией растения и фиолетовозерные линии Ф5-63, S10, RMu12 и RMu13. Уровень экспрессии генов биосинтеза антоцианов у ржи оценивали при анализе транскриптомов перикарпа зерновок, а также с использованием ПЦР-РВ. Определение нуклеотидных последовательностей исследуемых генов проводили секвенированием по Сэнгеру. Для секвенирования и анализа уровня экспрессии методом ПЦР-РВ использовали наборы геноспецифичных праймеров, разработанных на основе геномов и транскриптомов различных форм культурной и сорно-полевой ржи.

Результаты: Для установления генов биосинтеза антоцианов, функционирующих в зерновке у ржи, мы проанализировали транскриптомы перикарпа зерновок линий L7, vi4, Ф5-63 и RMu12, предположительно фиксированных по различным аллелям гена фиолетовозерности *Vs*. Как и для гена *Vs*, был обнаружен высокий уровень экспрессии генов-кандидатов мутаций *vi1*, *vi2*, *vi3* и *vi6* (*GST-7R*, *ANS-4R*, *DFR-3R* и *F3H-2R* соответственно) и других структурных генов биосинтеза антоцианов, а также регуляторного гена *Rc-4R* у фиолетовозерных линий, и существенно более низкий уровень экспрессии этих генов у линий без антоцианов в перикарпе. Эти данные свидетельствуют о том, что регуляторный ген *Vs* контролирует в зерновке уровень экспрессии комплементарного гена *Rc-4R* и основных структурных генов биосинтеза антоцианов, а также подтверждают, что гены-кандидаты известных мутаций безантоциановости вовлечены в формирование признака фиолетовозерности. При анализе уровня экспрессии генов *DFR-3R* и *F3H-2R* в зерновке у линий vi1, vi2, vi3, vi6, Ф5-63 и RMu12 с использованием ПЦР-РВ мы установили, что у безантоциановых линий уровень их экспрессии значительно ниже, чем у фиолетовозерных линий. При этом экспрессия гена *F3H-2R* полностью отсутствовала у линии vi6, а уровень экспрессии гена *DFR-3R* у линии vi3 был кратно ниже, чем у остальных желтозерных линий. Полученные данные подтверждают, что мутации *vi6* и *vi3* затрагивают структурные гены *F3H-2R* и *DFR-3R* соответственно. При секвенировании последовательностей генов *Rc-4R* и *ScPAC1-6R*, предположительно регулирующих накопление антоцианов в зерновке совместно с геном *Vs*, у одиннадцати линий Петергофской генетической коллекции был обнаружен низкий уровень нуклеотидного полиморфизма этих генов, в основном представленный синонимичными заменами. Это позволяет предположить, что изменчивость у ржи по окраске перикарпа в первую очередь связана с аллельными различиями гена *Vs*.

Выводы: Структурные гены, являющиеся кандидатами мутаций безантоциановости *vi1*, *vi2*, *vi3* и *vi6*, экспрессируются в перикарпе зерновки и контролируют накопление антоцианов в этой ткани. Наиболее вероятно, что ген *Vs* регулирует экспрессию гена *Rc-4R* и их продукты совместно, формируя регуляторный комплекс, активируют экспрессию структурных генов биосинтеза антоцианов. При секвенировании последовательностей регуляторных генов *Rc-4R* и *ScPAC1-6R* у различных линий, в отличие от гена *Vs*, был обнаружен низкий уровень полиморфизма. Эти данные подтверждают ключевую роль аллельного разнообразия гена *Vs* в наблюдаемых различиях по окраске перикарпа зерновки у ржи.

doi 10.18699/PlantGen-2025-64

Транскриптомный профайлинг клубней картофеля в динамике длительного холодового хранения

А.В. Быкова*, Е.З. Кочиева, А.В. Щенникова
Институт биоинженерии им. К.Г. Скрябина, ФИЦ «Биотехнологии» Российской академии наук, Москва, Россия
** kulakova_97@mail.ru*
doi 10.18699/PlantGen2025-

Цель: Выявление генов, определяющих различия между основными фазами длительного хранения клубней картофеля при низких положительных температурах.

Материалы и методы: В исследовании использовался сорт картофеля (*Solanum tuberosum* L.) Леди Клэр. При сборе урожая с одного растения были отобраны клубни сходного размера (90–100 г), которые далее были помещены на хранение при температуре 3 ± 1 °C в темноте на период 3.5 и 7 месяцев соответственно. Для отбора образцов на анализ (по 2 биологических повтора) были использованы точки ‘0’ (перед закладкой на холод), ‘3.5’ (3.5 месяца холодового хранения) и ‘7’ (7 месяцев). Образец представлял собой сектор (включая и кожуру, и мякоть), вырезанный из средней части клубня. Из каждой пробы была выделена суммарная РНК, и на основе препаратов были подготовлены и секвенированы (HiSeq2500) шесть библиотек мРНК. Полученные чистые чтения были использованы для сборки и аннотации транскриптомов (Trinity 2.1.1), включая нормализацию уровней транскриптов между образцами и определение дифференциально экспрессирующихся генов.

Результаты: Для каждого образца было получено около 17 миллионов одноконцевых прочтений длиной 100 п.н. После удаления некачественных и содержащих адаптеры последовательностей чистые чтения были сопоставлены с геномом картофеля сорта DM 1-3 516 R44 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF_000226075.1/). Из 31629 аннотированных в ГенБанке генов в образцах ‘0’-1/2 найдены транскрипты 23426, ‘3.5’-1/2 – 22604 и ‘7’-1/2 – 22576 дифференциально экспрессированных генов (ДЭГ). Было определено, что *vs.* ‘0’-1/2 в транскриптомах ‘3.5’-1/2 и ‘7’-1/2 значимо активировано 4746 и 4882 генов и репрессировано 5945 и 5911 генов соответственно. Анализ ДЭГ на предмет возможных функций показал, что уже спустя 3.5 месяца холодового хранения (‘3.5’) клубни выходят из состояния физиологического покоя, так как уровень экспрессии гена-маркера выхода, кодирующего dUTPase (deoxyuridine 5′-triphosphate nucleotidohydrolase), увеличился на порядок (‘3.5’ *vs.* ‘0’) и сохранил свое значение до прорастания клубня (‘3.5’ *vs.* ‘7’). Выход сопровождался активацией процессов углеводного метаболизма, связанных с гидролизом сахарозы и его ингибированием, синтезом и деградацией крахмала, транспортом сахаров. Значимо увеличилось число транскриптов генов, ассоциированных с ответом на фитогормоны (этилен, ауксины, гиббереллины, АБК). Другие свидетельства выхода клубней из состояния покоя – значительное увеличение экспрессии генов, чьи белковые продукты связаны с дифференцировкой и делением клеток, закладкой органов, переносом фитогормонов и вторичных метаболитов и инициацией цветения (транскрипционные факторы (ТФ) WUS, ATHB-15, MYB30, MOTHER of FT and TF1, SOC1, AGL27, MADS23, RICESLEEPER1, BLH8, bZIP53, NRT1/PTR, др.). Помимо этого, была показана резкая активация генов, которые могут участвовать в ответе клубней на холодовой стресс (гены ТФ GI, HY5, NAC29, NAC56, NAC100, WRKY3, WRKY65, DREB, др.) и которые ассоциированы с антиоксидантной активностью, сохранением свежести и потерей влаги клубнями во время хранения (PAL, patatin, NAC53, ERD15, MYB48). О стрессовом ответе клубней может также свидетельствовать дифференциальная регуляция регуляторных и структурных генов биосинтеза флавоноидов/антоцианов (кодирующих ТФ WD40, MYB, TTG1 (GLABRA1), а также ферменты FMO, OMT1, F3’5’H, flavonol 3-sulfotransferase-like, FLS, F3H, UFGT, ANS, DFR) и каротиноидов (STAY-GREEN, PSY1, PSY2, PDS, CRTISO, crtRB1, DWARF27, CCD1, CCD4, CYP97C1, ZE).

Выводы: Проведен сравнительный транскриптомный анализ клубней картофеля в динамике длительного холодового хранения (три точки: закладка после сбора урожая на хранение, 3.5 и 7 месяцев хранения при 3 °C). Выявлены свидетельства значимых модификаций генетических программ, которые направлены на сохранение клубня, определение его выхода из состояния физиологического покоя и подготовку к прорастанию. Показано, что в процессе длительного холодового хранения происходит преимущественное подавление экспрессии генов биосинтеза флавоноидов/антоцианов и каротиноидов. Впервые установлено, что выход из состояния физиологического покоя клубня может находиться под контролем генетической программы, близкой к программе регуляции инициации цветения растения.

Финансирование: Исследование поддержано ФНТП развития сельского хозяйства РФ на 2017–2025 гг. (подпрограмма «Развитие селекции и семеноводства картофеля в Российской Федерации», рег. № 123071400015-8) и МОН РФ.

doi 10.18699/PlantGen-2025-65

Новый подход к управлению мобиломом: вирус-опосредованная активация мобильных элементов в модельных и сельскохозяйственных растениях

А.В. Власова[1, 2]*, Е.Д. Камараули[1], Д.В. Перевозчиков[2], М. Мардини[1], П.Ю. Меркулов[1, 2], И.В. Киров[1, 2]
[1] *Московский физико-технический институт (МФТИ), Долгопрудный, Россия*
[2] *Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия*
* *vlasova.nactia@yandex.ru*
doi 10.18699/PlantGen2025-

Цель: Создание системы направленной активации мобильных элементов модельных и сельскохозяйственных культур с использованием генетической конструкции на основе вирусного генома.
Материалы и методы: В работе были использованы семена *Arabidopsis thaliana* L. дикого типа экотипа Col-0 и семена подсолнечника линии ZS. Для вирус-опосредованного сайленсинга генов использовали генетические конструкции на основе генома вируса погремковости табака (TRV) (TRV1; Addgene № 148968; TRV2; Addgene № 148969). Клонирование фрагментов генов, контролирующих активность мобильных элементов арабидопсиса и подсолнечника, в вектор производилось классическим методом рестрикции и лигирования в соответствии со стандартным протоколом производителя (СибЭнзим, Москва). В качестве доставки векторов использовали агробактерии методом агроинфильтрации растений шприцем без иглы для арабидопсиса, и вакуумную инфильтрацию семян для *Helianthus annuus* L. Детекцию активности мобильных элементов осуществляли путем ПЦР-амплификации кольцевых и линейных внехромосомных молекул ДНК транспозонов с использованием специфичных праймеров для арабидопсиса, для анализа мобилома подсолнечника использовали нанопоровое секвенирование кольцевых внехромосомных молекул (Mobilome-seq).
Результаты: Мы разработали новый подход, названный Te-storm, для активации мобильных элементов растений, основанный на комплексном воздействии на механизмы метилирования ДНК с помощью VIGS и теплового стресса. Данный подход был опробован на *A. thaliana* L., в качестве целевого гена для подавления метилирования транспозонов был выбран ген NRPD, кодирующий большую субъединицу РНК-полимеразы IV. В ответ на Te-storm была установлена сверхактивность термоиндуцибельного LTR-ретротранспозона ONSEN (ATCOPIA78) путем детекции в реальном времени его внехромосомных кольцевых и линейных молекул ДНК. После успешной активации ретротранспозона ONSEN на модельном объекте *A. thaliana* L., мы перенесли наш подход Te-storm на *H. annuus* L., где с помощью нанопорового секвенирования внехромосомных кольцевых ДНК было обнаружено обогащение неавтономными ретротранспозонами TR-GAG, в ответ на Te-storm. Кроме этого, нам было интересно проследить наследование новых инсерций в поколении, полученном от растений после Te-storm. С помощью полногеномного нанопорового секвенирования *A. thaliana* L. мы обнаружили 4 потомка из 15 растений одной линии Te-storm NRPD с новыми инсерциями в кодирующей области генов. Анализ показал, что гены с инсерционными мутациями вовлечены в ответ на абиотический стресс (AT2G35730), а также регулируют инициацию образования меристемы в пазушных почках (AT5G60690). Наконец с помощью нанопорового секвенирования, исключающего ПЦР-амплификацию, был определен профиль метилирования новых инсерций ретротранспозона ONSEN в *A. thaliana* L.
Выводы: Разработанный нами подход Te-storm демонстрирует значительный потенциал для активации мобильных элементов как в модельных, так и в сельскохозяйственных растениях. На примере *A. thaliana* L. комбинация вирус-опосредованного сайленсинга (VIGS) генов-регуляторов мобильных элементов с тепловым стрессом позволила добиться не только транзиентной активации ретротранспозона ONSEN в соматических тканях, но и наследования новых инсерций в поколении. Помимо этого, подход TE-storm открывает значительные перспективы для изучения мобилома сельскохозяйственных культур, поскольку он позволяет обойтись без необходимости создания стабильных мутантов. Кроме того, этот метод исключает использование культуры *in vitro*, что часто является ограничением в изучении мобильных элементов на многих видах растений.
Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ № 22-64-00076.

doi 10.18699/PlantGen-2025-66

Методы анализа изображений для мониторинга грибных заболеваний на основе CNN и LLM сетей в полевых условиях

М.А. Генаев*, М.В. Кожекин, Д.А. Афонников
Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
** mag@bionet.nsc.ru*
doi 10.18699/PlantGen2025-

Одна из актуальных проблем в крупных агрохолдингах – мониторинг посевов для выявления грибных заболеваний и очагов сорной растительности. Заболевания зерновых, вызванные патогенными грибами, могут существенно снизить урожайность сельскохозяйственных культур. Им подвержены многие культуры. Заболевание трудно контролировать в больших масштабах; мониторинг посевов помогает выявить заболевания и очаги сорной растительности на ранней стадии и принять меры по предотвращению их распространения. **Цель** работы – разработка метода анализа изображений для мониторинга грибных заболеваний и сорных растений в полевых условиях.

Материалы и методы: Одним из эффективных методов мониторинга является идентификация заболеваний на основе анализа цифровых изображений с возможностью получения их в полевых условиях, с использованием мобильных устройств. В работе предложен метод распознавания пяти грибных болезней побегов у злаков (листовая ржавчина, стеблевая ржавчина, желтая ржавчина, мучнистая роса и септориоз) как отдельно, так и при множественном заболевании, с возможностью выявления стадии развития растения. Был сформирован набор из 2414 изображений грибковых заболеваний пшеницы, для которых проведена экспертная маркировка по типу заболевания [1]. Алгоритмы распознавания заболеваний основаны на CNN модели EfficientNet [2] и LLM модели Qwen2.5 [3].

Результаты: Алгоритм распознавания заболеваний основан на CNN с архитектурой EfficientNet, показал точность 0,942. Метод распознавания реализован в виде бота на платформе Telegram, который позволяет пользователям оценивать растения по изображению в полевых условиях. Набор данных и модель выложены в открытый доступ и доступны на сайте http://wfd.sysbio.ru.

Выводы: Проведено сравнение CNN и LLM архитектур для задачи мониторинга грибных заболеваний и сорных растений в полевых условиях. Приложенный метод востребован индустрией для повышения эффективности плантационных работ.

Финансирование: Работа выполнена при поддержке бюджетного проекта № FWNR-2022-0020.

Список литературы

1 Genaev M.A. et al. Image-based wheat fungi diseases identification by deep learning. *Plants*. 2021;10(8):1500
2 Tan Mingxing, Le Quoc V. EfficientNet: Rethinking model scaling for convolutional neural networks. *ArXiv*. 2019
3 Yang A. et al. Qwen2.5 Technical Report. *ArXiv*. 2024

doi 10.18699/PlantGen-2025-67

Цитогенетический анализ повторяющихся последовательностей *Aegilops umbellulata*

М.Х. Гонсалес Франко*, А.И. Юркина, Д.С. Ульянов, О.В. Разумова, Е.Д. Бадаева, М.Г. Дивашук
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», Москва, Россия
** gonsalesmaida@yandex.ru*

Цель: Идентификация и характеристика тандемных повторов в геноме *Aegilops umbellulata.*
Материалы и методы: Объектом исследования был образец *Ae. umbellulata* К-822 (2n = 2x = 14; UU). Геномную ДНК *Ae. umbellulata* выделили СТАВ-методом. Полученную ДНК использовали для полногеномного секвенирования (NGS), проведения количественной ПЦР в реальном времени и синтеза ДНК-проб для флуоресцентной *in situ* гибридизации. Цитологические препараты митотических хромосом готовили давленным методом из корневых меристем.
Результаты: в результате биоинформатического анализа репитома *Ae. umbellulata* были отобраны 10 тандемных повторов: AE1, AE4, AE5, AE6, AE10, AE19, AE42, AE50, AE54, AE56 и оценен уровень их копийности методом реал-тайм ПЦР.
Сайты гибридизации AE1 на хромосомах *Ae. umbellulata* соответствуют положению минорных ядрышко-организующих регионов (NORs) на хромосомах 4U, 6U.
FISH-паттерны зонда AE4 на хромосомах *Ae. umbellulata* полностью соответствовали таковым при гибридизации зонда pAs1. Сигналы AE5-зонда располагались в дистальных и субтерминальных районах двух пар хромосом. AE6 локализуется в перицентромерных районах трех пар хромосом, на одной из пар хромосом наблюдались очень яркие двойные сигналы.
Сигналы AE10 очень четкие и находятся в интерстициальных районах четырех пар хромосом. По данным биоинформатического анализа, AE10 имеет гомологию к кластеру CL170, выявленному ранее у *Ae. crassa*. и представляющему собой ценный маркер для идентификации хромосом D-генома, однако на хромосомах *Ae. umbellulata* он картирован не был. Полученные в данном исследовании результаты показывают, что AE10, как и выявленный в более ранней работе CL170, может стать перспективным ДНК-зондом для FISH анализа геномов пшеницы и *Aegilops*.
AE19 показал диффузные сигналы на всех хромосомах, в проксимальных районах хромосом сигналы более яркие.
AE42 показал пару ярких субтерминальных сигналов на длинном плече одной пары хромосом *Ae. umbellulata.*
AE50 локализуется диспергированно на всех хромосомах.
AE54 у *Ae. umbellulata* показал яркие сигналы на одной паре хромосом.
AE56 сигналы локализовались преимущественно в субтерминальных и интерстициальных участках хромосом.
Выводы: В ходе данной работы были локализированы на хромосомах *Ae. umbellulata* 10 сателлитных повторов: AE1, AE4, AE5, AE6, AE10, AE19, AE42, AE50, AE54, AE56, также было выявлено, что паттерны AE1 соответствуют паттернам положения NORs на 4U и 6U хромосомах, а расположение AE4 полностью соответствует паттернам pAs1.
Финансирование: Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда 24-16-00145, https://rscf.ru/project/24-16-00145/.

doi 10.18699/PlantGen-2025-68

Характеристика аллельного состава S-локуса сортов груши Майкопской опытной станции – филиала ВИР

А.О. Гончаренко*, О.Ю. Антонова
Федеральный исследовательский центр «Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова» (ВИР), Санкт-Петербург, Россия
** aogoncharenko97@gmail.com*

Цель: Изучить аллельный состав *S*-локуса у сортов груши, поддерживаемых на Майкопской опытной станции – филиала ВИР, в том числе сортов кавказского происхождения. Черкесские груши – сорта, растущие в заброшенных садах в горах Адыгеи. Эти образцы адаптированы к произрастанию в сложных климатических условиях горных районов, они также обладают ценными агробиологическими признаками.
Материалы и методы: Для оценки аллельного состава *S*-локуса был проведен молекулярный скрининг 230 сортов груши, 119 из которых относились к сортам кавказской селекции. Экстракцию ДНК проводили из листьев или из почек побегов. Использовали модифицированный метод CTAB-экстракции (Антонова и др., 2020), для устранения полифенольных соединений применяли предварительную обработку растертой растительной ткани в буфере на основе сорбитола (Inglis et al., 2018). На основе анализа литературных данных были подобраны консенсусные (PycomC1 и PycomC5) и аллель-специфичные праймеры, (Sanzol, Robbins, 2008). Специфичная ПЦР проведена для аллелей S_{101}, S_{102}, S_{105}, S_{106}, S_{107}, S_{108}, S_{109}, S_{111} (Sanzol, Robbins, 2008). Продукты ПЦР разделяли электрофорезом в 2% горизонтальных агарозных гелях, окрашенных бромистым этидием, при напряжении 5 В/см длины геля в буфере 1xTBE. В случае консенсусных праймеров время электрофореза составляло 8–10 часов, для аллель-специфичных праймеров 1,5–2 часа.
Результаты: При анализе выборки из 230 сортов груши всего было выявлено 14 ПЦР-продуктов с различной электрофоретической подвижностью. Далее для дифференциации аллелей использовали ПЦР со специфичными праймерами, поскольку консенсусные могут давать для разных аллелей одинаковый ПЦР-продукт (Sanzol, Robbins, 2008). Например, фрагменту размером 650 п.о. могут соответствовать аллели с индексами S_{105}, S_{107}, S_{109}, S_{114}, S_{115}, S_{121}, S_{123} и S_{124}. Такой фрагмент в нашей выборке был выявлен у 79 сортов, из них 35 кавказского происхождения. ПЦР со специфичными праймерами подтвердила наличие аллеля S_{105} у 11 сортов, 6 из них кавказской селекции. Аллель S_{107} всего был идентифицирован у 6 сортов, 5 из них были кавказского происхождения. Аллель S_{109} был выявлен у 11 сортов, 6 из них кавказского происхождения. Идентификация других аллелей пока не проведена.
Фрагменту размером 675 п.о. должны соответствовать аллели S_{106}, S_{108}, S_{111}, S_{116}, S_{122}, S_{126}. Он присутствовал всего у 94 сортов, в том числе у 60 кавказских. ПЦР со специфичными праймерами показала наличие в выборке аллеля S_{106} у 11 сортов, аллеля S_{108} у 20 сортов, и аллеля S_{111} у 17 сортов.
По данным авторов консенсусных праймеров, наиболее распространенным у сортов груши является аллель S_{101} (ПЦР-продукт размером 1300 п.о.). В нашей выборке фрагменты такого размера присутствовали гораздо реже – только у 18,49% кавказских сортов и у 22,52% сортов другого происхождения. Аллель S_{102} (фрагмент 1700 п.о.) был выявлен у 28 сортов, из них 14 – кавказского происхождения. Также при использовании консенсусных праймеров мы выявили ряд фрагментов с размерами 2400, 1250, 600 п.о., которые ранее не были описаны в литературе.
При сопоставлении двух подвыборок (кавказские сорта и сорта иного происхождения) были показаны значимые отличия частоты встречаемости некоторых аллелей у кавказских сортов.
Выводы: Проведен анализ аллельного состава *S*-локуса у 230 сортов. При помощи консенсусных праймеров выявлено 14 полиморфных ПЦР-продуктов. Среди них при помощи аллель-специфичных праймеров дифференцированы аллели S_{101}, S_{102}, S_{105}, S_{106}, S_{107}, S_{108}, S_{109}, S_{111}, S_{114}. Частота встречаемости некоторых из них была статистически значимо ниже у кавказских сортов.
Финансирование: Исследование выполнено в рамках выполнения госзадания № FGEM-2022-0008.

doi 10.18699/PlantGen-2025-69

Лектины: мультиомиксный анализ вовлеченности в процессы роста и развития растений

Т.А. Горшкова*, А.Р. Агъямова, Н.В. Петрова
Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия
** gorshkova@kibb.knc.ru*

Цель: Лектины – углевод-связывающие белки, не обладающие каталитической активностью в отношении углеводов. Они представляют собой группу белков, широко распространенных во всех царствах живой природы, но безусловными «чемпионами» по многочисленности и разнообразию лектинов являются растения. Фундаментальное свойство обратимо связываться со специфическими углеводами делает лектины важными участниками реализации системы «гликокода» – информации, зашифрованной в структуре сложных полисахаридов и гликопротеинов, которая в растительном организме с его невероятным углеводным разнообразием имеет особое функциональное значение. Предполагается, что многие лектины растений служат важнейшими источниками сигналов и регуляторами морфогенеза. Это ставит задачу детального изучения на молекулярном уровне расширяющего разнообразия лектиновых белков, представленных в организмах растений, выявления их функциональной роли и механизмов ее реализации.
Материалы и методы: Исследование основано на использовании подходов геномики, транскриптомики и гликомики, а также получении рекомбинантных белков в растительной системе экспрессии.
Результаты: В геномах цветковых растений выявляются 300–400 генов белков с лектиновыми доменами, относящимся к 18 семействам, очень разным по своей аминокислотной последовательности и, предположительно, функциям. В ходе эволюции растений число генов белков с лектиновыми доменами в геномах существенно возросло, при этом происходило изменение в представленности различных семейств. Лектины обнаружены в различных органах растений и в различных внутриклеточных компартментах. Некоторые лектины могут накапливаться в значительных количествах, например, в семенах, служить запасными белками и выполнять функции защиты от вредителей. Однако большинство белков с лектиновыми доменами присутствуют в клетках в незначительных количествах, что, наряду с отсутствием детектируемой ферментативной активности, затрудняет их исследование. Накапливаются данные, что такие белки играют важную роль в путях внутриклеточной сигнализации, поскольку у многих лектинов, обнаруженных при секвенировании, лектиновый домен связан с киназным доменом. Такие белки локализованы на плазматической мембране и формируют обширную группу лектиновых рецептор-подобных киназ. Гены многих растительных лектинов дифференциально экспрессируются в разных тканях на различных этапах роста и формирования в ходе процессов нормального развития. Экспрессия некоторых сопряжена с формированием клеточных стенок определенного типа и существенно изменяется при переходе от гидростатического типа «скелета» к акцентированному. Для анализа специфичности связывания лектинов со сложными углеводами созданы специальные гликочипы, содержащие многочисленные олиго- и полисахариды, полученные из различных источников, включая растительные. В докладе будут представлены и обобщены результаты, полученные в растительной лектинологии – бурно развивающейся области исследований.
Финансирование: Работа поддержана грантом РНФ № 24-14-00383 и госзаданием для КИББ КазНЦ РАН.

doi 10.18699/PlantGen-2025-70

Цитогенетическая стабильность длительно пролиферирующих клеточных линий *Larix sibirica* Ledeb.

О.В. Горячкина, М.Э. Пак*, И.Н. Третьякова
Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН – обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск, Россия
** sibtaiga@bk.ru*

Цель: Оценить цитогенетическую стабильность эмбриогенных клеточных линий (*Larix sibirica* Ledeb.) разной продолжительности культивирования с целью выявления изменений числа хромосом и определения пригодности эмбрионально-суспензорной массы для микроклонального размножения и селекции.

Материалы и методы: Объектом исследования стали 12 эмбриогенных клеточных линий лиственницы сибирской, полученные в результате свободного и контролируемого опыления дерева-донора *L. sibirica* А4. Возраст клеточных линий составлял от 4 месяцев до 13 лет. Для цитогенетического анализа использовали глобулярные соматические зародыши на стадии пролиферации. Обработка колхицином, фиксация, окрашивание и подготовка временных давленых препаратов проводились по стандартной методике. Метафазные пластинки анализировали с использованием световой микроскопии, для каждой клеточной линии подсчет числа хромосом производился в 35–119 клетках. Классификация хромосом и подбор пар гомологов осуществлялись по морфологии, длине и центромерному индексу.

Результаты: Выявлено, что некоторые эмбриогенные клеточные линии лиственницы сибирской могут сохранять цитогенетическую стабильность в течение многих лет и содержать в кариотипе нормальное для данного вида диплоидное число хромосом (2n = 24). Наибольший интерес представляет клеточная линия 6, которая на протяжении 11 лет культивирования демонстрирует высокую генетическую устойчивость, стабильное число хромосом, низкую частоту встречаемости хромосомных мутаций и патологий митоза. Среди более молодых клеточных линий, культивируемых от нескольких месяцев до трех лет, было выявлено еще пять стабильно диплоидных (линии 16.28, 17.7, 22.47.1, 22.5.1, 23.21.2).

У ряда исследованных клеточных линий наблюдались различные геномные мутации. Были выявлены цитогенетически стабильные клеточные линии с измененным числом хромосом: 21.20.1, 21.20.2, 22.129 содержали в кариотипе 25 хромосом (2n = 25), линия 107 – 28 хромосом (2n = 28). Время культивирования данных линий на момент исследования составляло 1–3 г. Длительно пролиферирующая клеточная линия 4 исследовалась дважды: в возрасте 7 лет большинство клеток содержали 25 хромосом, в возрасте 13 лет – 26 хромосом. При первом исследовании в доступных для анализа клетках наблюдалась трисомия по одной из пар субметацентрических хромосом, при повторном – трисомия по одной паре метацентриков и одной паре субметацентриков.

Только одна из исследованных клеточных линий была цитогенетически нестабильной с разбросом хромосомных чисел от 24 до 31 и наличием микроядер в интерфазных клетках (10,5%). Большая часть метафазных пластинок (28,5%) содержала 29 хромосом, из которых 15 являлись длинными метацентриками и 14 – короткими субметацентриками. Также были обнаружены клетки, содержащие 24, 25, 26, 27, 28, 30, 35 хромосом. На момент исследования данная линия культивировалась в течение 8 лет и формировала большее число соматических зародышей, однако все они не созревали. Цитогенетическая нестабильность данной клеточной линии может быть связана как с аномалиями, присутствовавшими в материале, использованном для введения в культуру, так и с адаптацией клеток к условиям культуры *in vitro*.

Выводы: Результаты подтверждают, что эмбриогенные клеточные линии лиственницы сибирской способны сохранять цитогенетическую стабильность на протяжении длительного культивирования (до 13 лет). Так, клеточная линия 6 демонстрирует высокую генетическую устойчивость и пригодна для получения регенерантов. Обнаружение анеуплоидии у ряда клеточных линий указывает на необходимость регулярного цитогенетического контроля в коллекционных банках эмбриогенных культур. Цитогенетический анализ является эффективным инструментом для оценки генетической стабильности клеточного материала, необходимой для селекционных и биотехнологических программ по созданию высокопродуктивных и генетически однородных плантаций хвойных.

Финансирование: Исследования проведены в рамках базового проекта ФИЦ КНЦ СО РАН FWES-2024-0028 «Биоразнообразие лесов Сибири: эколого-динамический, генетико-селекционный, физико-химический и ресурсно-технологический аспекты».

doi 10.18699/PlantGen-2025-71

Автоматизация анализа геномных данных и предиктивное моделирование в селекции растений с использованием интегрированной биоинформатической системы компании ООО “ПЛАСТИЛИН”

Е.И. Григорьева*, Д.К. Константинов, Н.А. Сапожников, А.Ж. Ревель-Муроз, Н.О. Ерофеева, С.А. Брускин, К.В. Стрыгина, Д.О. Медведев
ООО “ПЛАСТИЛИН”, Москва, Россия
** grigoreva@plastilin.team*

Современная геномика растений переживает этап экспоненциального роста объемов данных в связи с распространением технологий высокопроизводительного секвенирования. Эффективная работа с этими данными, их интеграция с фенотипической информацией и трансляция в практически значимые результаты представляет собой перспективу для развития селекционных программ. Для решения этих задач в компании ООО “ПЛАСТИЛИН” разработана биоинформатическая система для автоматизации рутинных вычислительных этапов и предиктивного моделирования.

Результаты: Ключевым элементом системы являются автоматизированные вычислительные пайплайны, обеспечивающие обработку первичных данных секвенирования, полученных с использованием различных технологий, включая полногеномное секвенирование (WGS), генотипирование по сайтам рестрикции (GBS/ddRAD) и таргетное SNP-генотипирование. Пайплайн выполняет полный цикл обработки сырых данных: оценку качества, фильтрацию, картирование на референсный геном, маркировку ПЦР-дупликатов и вызов генетических вариантов. Автоматизация этих процессов значительно сокращает время обработки данных и обеспечивает высокую воспроизводимость результатов, минимизируя ошибки, связанные с ручной обработкой.
Важнейшим аналитическим блоком платформы является автоматизированный GWAS-пайплайн, предназначенный для поиска ассоциаций между генетическими маркерами и хозяйственно ценными признаками. В ходе анализа выполняются все необходимые шаги предобработки и непосредственно сам GWAS-анализ с выбором наиболее подходящей в каждом конкретном случае статистической модели, учитывающей структуру популяции и родственные связи между образцами. Результатом являются идентифицированные маркеры, статистически значимо связанные с изучаемыми признаками, такими, например, как урожайность, содержание белка или масла, устойчивость к болезням и абиотическим стрессам, параметры вегетационного периода и другие. Эти маркеры служат основой для разработки инструментов маркер-ориентированной и геномной селекции.
Центральным звеном системы является интегрированная база данных, которая аккумулирует и структурирует генотипические данные полученные в ходе собственных анализов, фенотипические описания образцов, собранные в различных условиях и в разные годы, информацию об условиях выращивания, а также постоянно пополняемую данными из мировых коллекций базу знаний об известных генах и маркерах, ассоциированных с признаками у различных культур. Такая интеграция данных важна для проведения комплексных анализов и построения точных предиктивных моделей.
Особая роль в представленной системе отводится модулям машинного обучения. ML-алгоритмы активно используются не только для вспомогательных процессов, но и для решения ключевых селекционных задач. На основе интегрированных генотипических и фенотипических данных разрабатываются модели геномной селекции, позволяющие предсказывать характеристики еще не испытанных в поле линий и гибридов. Разрабатываются модели для предсказания гетерозисного эффекта при скрещивании конкретных родительских линий, что позволяет оптимизировать подбор пар для гибридизации. Также ведется работа над моделями, учитывающими взаимодействие генотип-среда, что помогает подбирать или создавать сорта, адаптированные к конкретным регионам выращивания.

Выводы: Таким образом, разработанная биоинформатическая система представляет собой мощную, масштабируемую и гибкую инфраструктуру. Она обеспечивает автоматизированную обработку больших объемов данных и применение передовых методов анализа. Система успешно протестирована на ряде хозяйственно ценных культур, среди которых соя, горох, кукуруза, сахарная свёкла, подсолнечник, капуста и рис. Внедрение этой платформы позволяет существенно повысить эффективность и скорость создания новых сортов и гибридов растений с заданными характеристиками.

doi 10.18699/PlantGen-2025-72

Влияние новой транслокации T3DS.3DL-3SL от *Aegilops speltoides* на морфо-биологические признаки сорта пшеницы мягкой озимой Гром

Р.О. Давоян*, И.В. Бебякина, Э.Р. Давоян, Д.М. Болдаков, А.Н. Зинченко, В.А. Бибишев, В.И. Басов, А.А. Кресамова, Д.С. Миков

ФГБНУ Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко, Краснодар, Россия

** davoyanro@mail.ru*

Цель: Изучение влияния новой транслокации T3DS.3DL-3SL от *Aegilops speltoides* на морфо-биологические признаки сорта пшеницы мягкой озимой Гром.

Материалы и методы: Объектом исследования были 48 дигаплоидных линий мягкой пшеницы сорта Гром с транслокацией T3DS.3DL-3SL. Изучение линий по продолжительности вегетационного периода; высоте растений; форме колоса, устойчивости к листовой ржавчине и желтой ржавчине проводили в 2024 г. в полевых условиях. Учет поражения листовой ржавчиной (*Puccinia triticina* Eriks.), проводили в фазу молочно-восковой спелости зерна по международной шкале Майнса и Джексона (Mains, Jakson, 1926). Устойчивость к желтой ржавчине (*Puccinia stiifomis* West.), определяли по шкале Гасснера и Штрайба (Gasner, Straib, 1934). Массу 1000 зерен, массу зерна с 1 м^2, содержание белка определяли в лабораторных условиях по общепринятым методикам в четырехкратной повторности.

Результаты: Использование генофонда диких сородичей, обладающих значительным запасом генетического разнообразия, является актуальной задачей селекции мягкой пшеницы. Эффективным методом передачи ценного генетического материала от диких сородичей в культурную пшеницу является создание и использование в качестве «мостиков» синтетических форм. С использованием синтетической рекомбинантной формы RS7 (BBAAUS) были получены интрогрессивные дигаплоидные линии сорта Гром. Цитологическое изучение (C-banding и FISH) выявило линии как с несколькими интрогрессиями, так и единичными и, в частности, с новой транслокацией T3DS.3DL-3SL от *Ae. speltoides.* Для определения влияния транслокации T3DS.3DL- на морфо-биологические признаки сорта пшеницы мягкой озимой Гром, проводилось изучение 48 дигаплоидных линий. Все линии, как и сорт Гром имеют пирамидальную форму колоса, при этом 4 линии отличаются остистой формой колоса. По длине колоса достоверных различий с сортом Гром не выявлено. Высота растений за исключением одной линии (3733п24) превышала сорт Гром (77 см) на 10–20 см. Вегетационный период линий был на 5–10 дней короче и составлял от 242 до247 суток. Масса 1000 зерен варьировала от 40 до 45 г при 40 г у сорта Гором. Для оценки продуктивности было отобрано 5 наиболее интересных по фенотипу линий. Линия 3733п24 достоверно превышала по массе зерна с 1 м^2 сорт Гром (491,2 и 440,3 г соответственно). Остальные линии по этому показателю были на уровне сорта Гром. Наличие транслокации T3DS.3DL-3SL в линиях привело к существенному повышению содержания белка по сравнению с сортом Гром (12,2%). Минимальное значение по этому признаку выявлено у линии 3743п24 (13,7%), максимальное у линий 3729п24 и 3737п24 (17%). Содержание белка 37 линий превышало 15%. Все линии обладают групповой устойчивостью к листовой и желтой ржавчинам. Умеренную устойчивость (тип реакции 2) к листовой ржавчине проявили 8 линий, к желтой ржавчине – 6 линий. Все остальные линии были высокоустойчивы (тип реакции 1) к обоим патогенам.

Выводы: Полученные результаты свидетельствуют о ценности новой транслокации T3DS.3DL-3SL от *Ae. speltoides* для селекционной практики. Планируется дальнейшее изучение дигаплоидных линий по продуктивности.

doi 10.18699/PlantGen-2025-73

Аллельное разнообразие генов локусов *Vrn-1* и *Ppd-1* у интрогрессивных линий мягкой пшеницы

Э.Р. Давоян*, И.В. Бебякина, Р.О. Давоян, Д.М. Болдаков, А.Н. Зинченко, Ю.С. Зубанова, В.И. Басов, А.А. Кресамова, Д.С. Миков

ФГБНУ Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко, Краснодар, Россия

** davayan@rambler.ru*

Цель: Определить аллельное состояние генов локусов *Ppd-1,* определяющего чувствительность к фотопериоду, и *Vrn*-1, отвечающего за потребность в яровизации у интрогрессивных линий мягкой пшеницы (*Triticum aestivum*).

Материалы и методы: Объектами исследования служили синтетическая форма *Triticum miguschovae* (GGAADD), а также 14 интрогрессивных линий мягкой пшеницы, полученных с ее участием. В качестве реципиентов использовались коммерческие сорта мягкой пшеницы Аврора, Безостая1, Кавказ, Фишт, Гром, Восторг, Краснодарская 99 и др. Геномно-добавленная форма *T. miguschovae* создана в результате спонтанной мутации в F_2 у амфидиплоида, полученного от скрещивания *T. militinae* с устойчивой к листовой ржавчине формой *Aegilops tauschii* (Жиров, 1980). Изучаемые линии получены в отделе биотехнологии НЦЗ им. П.П. Лукьяненко. Для определения аллельного состояния генов *Vrn–A1, Vrn-B1, Vrn-D1* применяли эффективные для определения аллель-специфичные маркеры (Yan et al., 2004; Fu et al., 2005). Продукты ПЦР разделяли электрофорезом в 1,8% агарозном геле. Гели окрашивали бромистым этидием и фотографировали в ультрафиолетовом свете с помощью фотобокса «INFINITI 1000». В качестве маркера молекулярной массы использовали ДНК маркер М 24 100 bp производства «СибЭнзим» Россия.

Результаты: Изучаемые линии имели озимый тип развития и достаточные различия между собой по времени колошения. По дате начала колошения наиболее ранний срок отмечен у линии 1717 (4 мая), тогда как у линии 2478 начало колошения наблюдали 17 мая. Одной из причин различия линий по времени колошения могли быть гомеологичные гены *Vrn-A1, Vrn-B1, Vrn-D1*. При использовании пары праймеров VRN1AF/R к маркеру, сцепленному с геном *Vrn-A1,* у всех образцов выявлен фрагмент амплификации 484 п.н., в то время как у *T. miguschovae* таковой составил около 450 п.н. Большинство образцов несут рецессивные аллели *Vrn-A1b, Vrn-B1b* и *Vrn-D1b* определяющие озимый тип развития. У *T. miguschovae* и линий 1324 1534 отсутствовала амплификация целевого фрагмента 1149 п.н., специфичного для аллеля *Vrn-B1в.* За исключением *T. miguschovae* и линий 1553, 2436, 2478, у которых идентифицирован рецессивный аллель *Ppd-D1b,* все остальные линии несут аллель *Ppd-D1a,* характерный для нечувствительных к длине дня генотипов.

Выводы: Предположительно форма *T. miguschovae* может нести отличные от мягкой пшеницы аллели генов *Vrn-A1* и *Vrn-B1*. Отсутствие амплификации целевых для гена *Vrn-B1* фрагментов у линий 1324, 1534 может быть связано с отсутствием 5B хромосомы мягкой пшеницы в результате ее замещения на соответствующую от *T. militinae* или присутствием транслокации от этого вида.

doi 10.18699/PlantGen-2025-74

Видовая идентификация и содержание каротиноидов в микроводорослях рода *Dunaliella* из гиперсоленых озер Крыма

И.В. Дегтяр*, А.О. Лантушенко
ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет», Севастополь, Россия
** ivdegtyar@sevsu.ru*

Цель: Целью данной работы является видовая идентификация зеленых микроводорослей рода *Dunaliella*, обитающих в гиперсоленых озерах Крыма, а также определение содержания в них каротиноидов. Работа направлена на изучение биоразнообразия микроводорослей в экстремальных условиях среды и оценку их потенциала как источников биологически активных веществ, в частности β-каротина, представляющего интерес для промышленности.

Материалы и методы: Образцы были собраны из пяти гиперсоленых озер Крыма: озеро Сасык-Сиваш, озеро Сакское, озеро Ойбургское, озеро Мойнакское и озеро Геническое. Были выделены чистые культуры микроводоросли рода *Dunaliella* методом посева на агаризованную среду Ben-Amotz с соленостью 1 М. Полученные культуры выращивались на среде Ben-Amotz с соленостью 2М при температуре 20 °С с фотопериодом 12 часов освещение/12 часов без освещения. Для идентификации видов проводился филогенетический анализ. Выделение ДНК осуществлялось при помощи набора реагентов ДНК-Экстран-2 (Синтол, Россия). ПЦР-анализ последовательности внутреннего транскрибируемого спейсера ITS проводился с помощью стандартных праймеров ITS1 и ITS2. Секвенирование проводилось по методу Сенгера на генетическом анализаторе НАНОФОР 05 (Синтол, Россия). Для индукции стресса в культуру, находящейся в стационарной фазе роста, добавлялась перекись водорода (2,5 мМ) и увеличивалась освещенность, при этом для каждого образца стрессовые условия были идентичны. Экстракция каротиноидов проводилась с помощью ацетона. Содержание хлорофиллов и каротиноидов определялось спектрофотометрическим методом.

Результаты: На основе анализа последовательности ITS было установлено, что штаммы из озер Ойбургского, Сасык-Сивашского, Мойнакского и Генического принадлежат к виду *Dunaliella salina*. Интересно отметить, что штамм из Сакского озера, вероятно, относится к *D. parva*. Внутри вида *D. salina* наблюдается внутривидовая вариабельность, исследователи выделяют не менее 4 генетических линий. Интересно отметить, что крымские образцы образуют клады с разными генетическими линиями.

Метод экстракции каротиноидов из биомассы *Dunaliella* с использованием ацетона показал высокую эффективность, при этом содержание каротиноидов для образцов из разных озер сильно варьировалось. Наибольшая концентрация β-каротина была зафиксирована в экстрактах из Сакского и Ойбургского озер, а наименьшая – из Генического озера.

Выводы: Установлено, что на территории крымского полуострова обитают два каротинногенных вида микроводорослей рода *Dunaliella: D. salina и D. parva.* Для штаммов вида *Dunaliella salina* из озер Ойбургского, Сасык-Сивашского, Мойнакского и Генического наблюдается определенная генетическая изменчивость. Содержание каротиноидов для образцов из разных озер сильно варьировалось, при этом наибольшая концентрация β-каротина была зафиксирована в экстрактах из Сакского и Ойбургского озер, а наименьшая – из Генического озера.

Финансирование: Работа выполнена в рамках в рамках государственного задания Севастопольского государственного университета «Фотобиофизический мониторинг окружающей среды на основе спектрально-флуоресцентных свойств структурно-организованных молекулярных (включая наночастицы) и супрамолекулярных биологически важных систем» (FEFM-2023-0005).

doi 10.18699/PlantGen-2025-75

Определение таксономической принадлежности пыльцы и спор растений и грибов в аэробиологических образцах методом метабаркодинга

Я.В. Деменчук[1], О.В. Никитина[2], Е.Э. Северова[2], А.А. Криницына[2]*
[1] *Высшая школа экономики, Москва, Россия*
[2] *Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*
* *ankrina@gmail.com*

Растительная пыльца и споры некоторых видов грибов могут обладать различной степенью аллергенности и служить факторами развития респираторных заболеваний человека, таких как поллиноз, хроническая обструктивная болезнь легких, приводить к обострению астмы. Пыльца и споры довольно широко распространены в воздушной среде, поэтому мониторинг и прогнозирование динамики изменений концентрации пыльцы различных видов растений, а также спор грибов в воздухе во всем мире является важной задачей для защиты населения от вызываемых ими аллергических реакций, играет немаловажную роль в прогнозах вспышек заболеваний растительных культур в сельском хозяйстве и защите окружающей среды. Среди методов, применяемых для идентификации таксономической принадлежности пыльцы и спор растений, традиционным является световая микроскопия. Однако для растений ряда систематических групп, таких как маревые или злаковые, морфология пыльцевого зерна позволяет с уверенностью определить его таксономическую принадлежность только до уровня семейства. Определение видовой принадлежности спор грибов по морфологии споры довольно затруднительно. По мере развития технологий секвенирования и биоинформатических инструментов анализа получаемых данных, для решения задач, связанных с установлением таксономической принадлежности организма, начали активно применять ДНК-метабаркодинг – определение таксономической принадлежности образца по строению определенных участков генома, например, межгенных спейсеров в генах рРНК (ITS1 и ITS2). Одним из ключевых успехов анализа данных секвенирования указанных областей является наличие реферируемой и максимально полной базы данных. В 2020 году была создана база данных растительных ITS (PLANiTS), главной особенностью которой является разделение на три структурные части, содержащих ITS1, ITS2 и весь регион ITS соответственно. Однако последнее обновление данной базы проводилось несколько лет назад.

Цель: С использованием обновленной нами базы PLANiTS провести анализ данных секвенирования участков межгенных спейсеров ITS1 и ITS2 с дальнейшей оценкой корректности определения таксономической принадлежности растительных образцов.

Материалы и методы: В работе использовали аэробиологические образцы, собранные при помощи пыльцевой ловушки типа Херста в Москве и в Рязани, в период активного цветения злаков. Всего за три года наблюдений был отобран 131 образец – 47 из Москвы и 84 из Рязани. Выделение ДНК из смытых с пленок аэробиологических образцов проводили при помощи модифицированного CTAB-метода. Наработку участков межгенных спейсеров ITS1 и ITS2 проводили с использованием высокоточной смеси полимераз Encyclo (Евроген, Россия). После очистки продукты амплификации использовали для приготовления библиотек для дальнейшего секвенирования на платформе Illumina. Обработку полученных результатов проводили при помощи пакета QIIME 2 и обновленной нами базы данных PLANiTS.

Результаты: Обновление базы происходило при помощи данных из NCBI. В результате очистки массива данных от последовательностей, относящихся к растениям, содержащих в своей аннотации ‘predicted’, ‘putative’, ‘uncharacterized’, ‘unverified’, ‘scaffold’, ‘protein’, ‘hypothetical’, ‘TSA’ и ‘mRNA sequence’, из базы были удалены 58% всех импортированных записей. Для оставшихся записей был проведен поиск и удаление химерных последовательностей, которые составили 8,14 и 5,97% для ITS1 и ITS2 соответственно. При анализе данных секвенирования аэробиологических образцов были выявлены прочтения, относящиеся как к ветроопыляемым растениям, таким как крапива (Urtica), злаковые – Poa, Apera, Agrostis, Lolium, Calamagrostis, щавель (Rumex), береза (Betiula), подорожник (Plantago), так и к насекомоопыляемым – сирень (Syringa), таволга (Filipendula). Наличие в образцах пыльцы березы, пик цветения которой приходится на более ранние сроки, может быть связано с попаданием на ловушку пыльцы, сохранившейся на почве. Пыльца насекомоопыляемых растений могла попасть вместе с насекомыми, которые также могут быть пойманы в пыльцевую ловушку.

Финансирование: Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ им. М.В. Ломоносова.

doi 10.18699/PlantGen-2025-76

Поиск генов, вовлеченных в регуляцию синтеза проантоцианидинов в зерне ячменя (*Hordeum vulgare* L.), на основе анализа транскриптомных данных

А.А. Денисов[1, 2]*, Н.А. Шмаков[1, 2], Г.В. Васильев[1], О.Ю. Шоева[1, 2]
[1] *Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия*
[2] *Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия*
* *a.denisov@bionet.nsc.ru*

Цель: Ячмень (*Hordeum vulgare* L.) является важной сельскохозяйственной культурой, широко используемой в пивоварении, кормопроизводстве и пищевой промышленности. Одним из ключевых факторов, влияющих на качество зерна, является содержание проантоцианидинов – флавоноидных соединений, которые выполняют различные функции, среди которых поддержание состояния покоя семян, защита от УФ излучения, окислительного стресса и патогенов. Проантоцианидины снижают питательную ценность зерна, а также вызывают коллоидное помутнение пива, снижая срок его хранения и требуя дополнительных технологических процессов для устранения этой проблемы. В связи с этим актуальной задачей является изучение генетических механизмов, контролирующих синтез этих соединений. Целью данного исследования было выявление генов, вовлеченных в контроль синтеза проантоцианидинов в зерне ячменя с помощью анализа транскриптомных данных.
Материалы и методы: Материалом для исследования служили зерна ячменя сорта Zenit и мутантной линии *ant27.488*, выращенные в контролируемых условиях фитотрона. Отбор образцов проводили на двух стадиях развития зерна: поздней молочной (late milk) и ранней восковой (dough) спелости. Тотальную РНК выделяли из оболочек зерна с использованием набора RNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN). Качество РНК оценивали на биоанализаторе Bioanalyzer 2100. Подготовку библиотек для секвенирования выполняли с применением набора TruSeq Stranded mRNA LT Sample Prep Kit (Illumina). Секвенирование проводили на платформе Illumina NextSeq 550 с длиной чтения 75 п.н. Биоинформатический анализ включал контроль качества данных с помощью FastQC и FASTP, выравнивание прочтений на референсный геном MorexV3 (HISAT2), поиск SNP (bcftools), анализ дифференциальной экспрессии (DESeq2) и аннотацию генов (EnsemblPlants, AgriGO). Экспериментальную верификацию проводили методом количественной ОТ-ПЦР с использованием гена *Actin* в качестве референса.
Результаты: Было выявлено 3413 SNP в экспрессирующихся генах мутанта *ant27.488* по сравнению с родительским сортом Zenit. Среди них 734 (21.5%) приводили к несинонимичным заменам аминокислот. Распределение SNP по хромосомам было неравномерным, с максимальной частотой на хромосоме 1H (1323 SNP) и минимальной – на 7H (92 SNP). Преобладали транзиции (69.2%), что характерно для мутаций, индуцированных азидом натрия. Дифференциальный анализ экспрессии показал, что на поздней молочной стадии у мутанта 1937 генов имели пониженную и 670 генов – повышенную экспрессию по сравнению с родительским сортом Zenit. На ранней восковой стадии эти показатели составили 1636 и 966 генов соответственно. Среди генов с пониженной экспрессией обнаружены структурные гены пути биосинтеза флавоноидов: *Chs*, *Chi, F3h, Dfr*, *Lcr* и *Ans*. В результате анализа обогащения терминов генной онтологии для генов с пониженной экспрессией были выявлены значимо обогащенные категории, связанные с ответом на различные виды стресса: ответ на абсцизовую кислоту, ответ на перекись водорода и солевой стресс, а также с метаболизмом фенилпропаноидов, что согласуется с известной ролью проантоцианидинов в защите растений от стрессовых факторов. Для генов с повышенной экспрессией наиболее значимыми оказались категории, связанные с процессами репарации ДНК и реорганизации цитоскелета, что может отражать активацию компенсаторных механизмов в ответ на нарушение синтеза защитных соединений. Экспериментальная верификация подтвердила достоверность данных дифференциальной экспрессии для девяти генов. Корреляция Спирмена составила 0.56 при $p = 0.026$.
Выводы: Проведенное исследование позволило выявить ключевые генетические изменения, связанные с нарушением синтеза проантоцианидинов у мутантной линии ячменя *ant27.488*. Полученные данные демонстрируют, что мутация в локусе *Ant27* вызывает комплексные изменения в экспрессии генов, затрагивающие не только путь биосинтеза флавоноидов, но и различные стрессовые реакции растения. Особый интерес представляют выявленные гены с измененной экспрессией, которые могут быть непосредственно связаны с синтезом проантоцианидинов. Экспериментальная верификация данных дифференциальной экспрессии подтвердила достоверность полученных результатов.
Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ № 25-16-20101, https://rscf.ru/project/25-16-20101/.

doi 10.18699/PlantGen-2025-77

Интеграция геномики, спидбридинга и биоинформатики как инструмент решения селекционных задач

М.Г. Дивашук
Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия
divashuk@gmail.com

Цель: Разработать комплексный интегрированный подход на основе современных высокопроизводительных технологий в области геномики, спидбридинга и биоинформатики с целью повышения эффективности и ускорения селекционного процесса.

Материалы и методы: В качестве методов использовались протоколы спидбридинга (ускоренного выращивания растений в установках искусственного климата), протоколы высокопроизводительного цифрового фенотипирования с использованием установки TraitFinder с платформой PlantEye Dual Scan, биоинформатический анализ данных полногеномного секвенирования (Illumina) и SNP-типирования, протоколы секвенирования отдельных генов, алгоритмы разработки на выявленные полиморфизмы молекулярных маркеров, в том числе маркеров нового поколения KASP, поиск ассоциаций между генетическими и фенотипическими полиморфизмами с помощью GWAS-анализа, дисперсионного и корреляционного анализов, протоколы геномного редактирования.

Результаты: Интеграция современных технологий – спидбридинг, полногеномное секвенирование, ИИ и геномное редактирование – может открыть пути преодоления барьеров между селекцией и достижениями научного прогресса. Создаваемые в исследовательской программе технологии позволяют создавать рекомбинантные панели, ускоряя поиск генов-мишеней, актуальных для конкретных агроэкологических условий. Они служат одновременно материалом для разработки инструментов маркер-опосредованного отбора и источником генетически разнообразного материала, а также референсными системами для валидации генов в разных экозонах. Синтез технологий спидбридинга с ИИ-климатическими моделями имитирует прогнозируемые стрессы, выявляя гены устойчивости к стрессовым факторам. В результате тесного сотрудничества между специалистами в области генетики, селекции, биоинформатики и феномики были созданы генетически охарактеризованные рекомбинантные панели яровой мягкой и твердой пшеницы и тритикале, прошедшие агроэкологические испытания в условиях Московской области и Краснодарского края. Созданные панели позволили выявить новые гены-мишени хозяйственно ценных признаков и оценить их фенотипическое проявления во взаимодействии с известными генами-модификаторами. Исследованы взаимодействия генов азотного метаболизма *TaGRF3-2A* и *ScGrf3-2R* у яровой тритикале во взаимодействии с генами *Rht-1* и *Ddw1*, генов азотного метаболизма *TaBT2-3A, TaAMT-2B* и *TaGS2-2A* во взаимодействии с генами *Rht17* и *Ppd-D1* у яровой мягкой пшеницы, гена биосинтеза цистеина *sat2* у яровой твердой пшеницы. Благодаря внедрению подходов клинической медицины, предполагающих длительную консервацию выделенной ДНК изучаемых панелей, открывается возможность изучения фенотипического проявления новых генов с использованием архивных цифровых и биологических данных. В тесном сотрудничестве с индустриальными партнерами с помощью маркер-опосредованной селекции и созданной базы данных однонуклеотидных полиморфизмов для оценки генетического разнообразия был создан сорт озимой мягкой пшеницы ВНИИСБ 50. Новый сорт характеризуется устойчивостью к полеганию и бурой листовой ржавчине, высокой урожайностью и качеством зерна на уровне ценной по качеству пшеницы. Также при непосредственном участии со стороны индустриальных партнеров был создан новый сорт сои Лада СД, который по сравнению со стандартом дает три дополнительные 3 центнера с гектара и 3% сырого протеина, а также характеризуется более высоким соотношением белка к жиру в соевых бобах. Оба сорта в 2024 году успешно прошли испытания в Орловской области в условиях, приближенных к производственным, и показали высокую урожайность. Разработана и апробирована на основных сельскохозяйственных культурах биоинформатическая интерактивная панель анализа данных цифрового фенотипирования StatFaRmer.

Выводы: Разработанная система интеграции технологий спидбридинга, цифрового и полевого фенотипирования, маркер-опосредованной и геномной селекции, геномного редактирования и биоинформатического анализа. Система позволяет создавать новый генетический материал стратегически важных сельскохозяйственных культур, в том числе использующийся для создания новых продуктивных и устойчивых сортов.

doi 10.18699/PlantGen-2025-78

Сделать спидбридинг еще быстрее: новые факторы, влияющие на сокращение вегетационного периода кукурузы (*Zea mays* L.)

А.Р. Дмитриева[1]*, А.О. Блинков[1], Д.С. Симоненко[1, 2], С.Б. Радзениеце[1], А.П. Алферов[1], А.А. Кочешкова[1], А.Г. Черноок[1], М.Г. Дивашук[1]

[1] *Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия*
[2] *Кубанский государственный аграрный университет им. И.Т. Трубилина, Краснодар, Россия*
* *Anna.Dmitrieva-8@yandex.ru*

Цель: Разработка протокола для сокращения вегетационного периода кукурузы (*Zea mays* L.) и изучение влияния таких параметров, как субстрат, объем горшка, густота посадки, краткосрочного облучения ультрафиолетом B и минеральных удобрений.

Материалы и методы: На генотипах Золотой початок 147 MB, Мармеладка, Ранняя лакомка, Лакомка Белогорья, 975-5х было изучено влияние различных по объему горшков (0,5л / 2л / 11л / 120 л) и кассеты 5*2 с объемом ячейки 110мл. Проведено краткосрочное облучение ультрафиолетом B (310–315 нм) на гибридах F_1 Золотой початок 147 MB и Мармеладка. Оценена урожайность гибридов F_1 Золотого початка 147 MB, 165 MB, 200 CB, 307 MB, 182 MB, 192 MB, 350 MB и Мармеладки, выращенных на торфе и смеси из кокосового субстрата с перлитом и торфом. Протестированы минеральные удобрения, отличающиеся соотношением NPK и препаративной формой такие как: «Осмокот» 6-8-12+2.2MgO 5–6 M (4,5 и 9 г/л), «Осмокот» 17-11-10+2.2MgO+TE 3–4 M (4,5 и 9 г/л), «Акварин» 18:18:18 (2 г/л), «Акварин» 3:11:38 (2 г/л).

Результаты: Ранее для ускорения вегетационного периода растений кукурузы мы подобрали условия: короткий фотопериод продолжительностью 14 ч день / 10 ч ночь, интенсивность света в районе 800 мкмоль/м^2/с, температура 28 °C днем/ 25 °C ночью, влажность воздуха 50%. После проведения дополнительных экспериментов нам удалось выяснить, что:

Высокая и низкая озерененность початков наблюдалась на торфе и смеси (кокосовый субстрат + перлит + торф) соответственно. Растения, растущие в горшках объемом 2,0 л, облучаемые 15/30/60 сек в день ультрафиолетом B (310–315 нм) имели более низкий рост. Кроме того, ультрафиолет B увеличивал протерандрию, как у растений в горшках объемом на 2,0 л, так и на 11 л. При сопоставлении различных минеральных удобрений есть два наиболее подходящих варианта: первый – «Акварин» до цветения – 18:18:18 (2 г/л) и с начала цветения – 3:11:38 (2 г/л); второй – «Осмокот» 16-8-12+2.2MgO 5–6 M (4,5 г/л). В пользу первого выступает доступная цена, в пользу второго качество, технологичность и постоянный pH при хранении и реализации. Густой посев растений и укорачивание листьев дает отрицательный эффект, приводящий к снижению или полной стерильности метелки.

Выводы: После проведения нескольких опытов стало ясно, что можно повысить урожайность растений используя торф, укоротить растения за счет малого объема горшка и облучения ультрафиолетом, отложить время цветения под влиянием УФ, искусственно вызвать стерильность метелки, а также возможность поддерживать питание растений удобрениями с неменяющимся pH.

С использованием отобранных нами условий и факторов ускорения вегетации время от посева до уборки занимает около 2,5–3 месяцев, в зависимости от исследуемого генотипа.

Финансирование: Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, государственное задание № FGUM-2024-0002.

doi 10.18699/PlantGen-2025-79

Вирус-опосредованное геномное редактирование *Nicotiana benthamiana* для создания растений-продуцентов

М.В. Дмитриева[1, 2]*, А.В. Полховский[1, 2], И.В. Киров[1, 2]
[1] *Московский физико-технический институт, Долгопрудный, Россия*
[2] *Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», Москва, Россия*
** dmitrievamarina10@yandex.ru*

Цель: Адаптировать метод вирус-опосредованного геномного редактирования (VIGE) на основе вируса TSWV и использовать его для получения растений *Nicotiana benthamiana* с нокаутами по генам *DCL2* и *DCL4*.
Материалы и методы: Клонирование sgRNA в вектор проводилось при использовании метода GoldenGate, для доставки конструкций в растения применялась агробактериальная трансформация Растения выращивались при температуре 22 °C и световом периоде 16ч/8ч. Детекция мутагенеза проводилась при секвенировании по Сэнгеру и/или при использовании T7 эндонуклеазы. Распространение и передача вируса детектировалась ОТ-ПЦР. Каллусообразование и регенерация растений проводилась на среде MS (Murashige-Skoog) без добавления антибиотиков.
Результаты: Вирус-опосредованное редактирование генов (VIGE) становится еще одним направлением мутагенеза, который позволяет получить растения с точными мутациями, не используя трансгенез («DNA-free»). Также преимуществом VIGE является то, что многие важные сельскохозяйственные растения не подвержены классической агробактериальной трансформации, но подвержены заражению вирусами. Для облегчения процесса их заражения необходимы специальные растения-посредники с ослабленным противовирусным ответом – «вирусные фабрики», в которых будет проводится наработка вирусных частиц для последующего заражения сельскохозяйственных культур. Ранее вирус пятнистого увядания томатов (TSWV) использовался для бестрансгенной доставки системы CRISPR-Cas9 в растительные клетки и мутагенеза в целевых генах. Вирусное системное инфицирование соматических тканей растений с последующим культивированием *in vitro* позволяет регенерировать отредактированные растения и получить готовый к использованию безвирусный материал для селекции растений.
В данной работе мы адаптировали вирус-опосредованный мутагенез растений на основе вируса TSWV на примере гена фитоендесатуразы (*PDS*) и применили его для таргетного мутагенеза генов дайсер-подобного белка 2 (*DCL2*) и дайсер-подобного белка 4 (*DCL4*) *N. benthamiana*. Мы проанализировали связь между эффективностью редактирования и прогрессированием симптомов вируса, а также тепловой обработки (37 °C), холодового стресса (18 °C), сайленсинга *NbRDR6*. Для получения растений с мутациями в целевых генах мы использовали *in vitro* регенерацию из системно инфицированных листьев *N. benthamiana*. Секвенирование показало, что более 95% растений-регенерантов несли мутации в 1–4 генах *PDS*. Для проверки наследования было получено потомство (M_1) с растений, несущих мутации в 2–3 генах *PDS* (M_0). Потомство этих растений дало расщепление по фенотипу 3 (зеленые растения) : 1 (белые растения) и 15 (зеленые растения) : 1 (белые растения).
Выводы: Метод VIGE показал эффективность редактирования соматических клеток до 60% для гена *PDS N. benthamiana*. Были получены растения *N. benthamiana* с нокаутом по генам *DCL2* (эффективность составила 2–48%) и *DCL4* (эффективность составила 3–16%), которые будут в дальнейшем использоваться для наработки вирусных частиц с целью заражения других видов растений.
Финансирование: Исследование поддержано в рамках программы «Приоритет 2030» (МФТИ, Физтех).

doi 10.18699/PlantGen-2025-80

Влияние генов *Blp1* и *Ppo2* на биохимические характеристики зерна ячменя (*Hordeum vulgare* L.)

И.С. Добряк[1, 2]*, О.Ю. Шоева[1, 2]
[1] *Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия*
[2] *Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия*
** dobryakis@bionet.nsc.ru*

Цель: Ген *Blp1* ('Black lemma and pericarp') моногенно контролирует признак черной окраски чешуй и перикарпа зерна ячменя (*Hordeum vulgare* L.). Известно, что эта окраска обеспечивается накоплением в тканях пигмента меланина, который образуется в результате окисления фенольных соединений ферментом полифенолоксидазой (PPO). *Blp1* предположительно кодирует транспортер тирозина, обеспечивая таким образом поступление в клетку субстрата для синтеза меланина. А также, как было показано ранее, активирует экспрессию одного из генов, кодирующих PPO, – *Ppo2*. Целью работы является исследование влияния генов *Blp1* и *Ppo2* на биохимические характеристики зерна ячменя, такие как содержание фенольных соединений и антиоксидантная активность, отдельно в чешуях колоса и перикарпе зерна.
Материалы и методы: В исследовании использовались четыре почти-изогенные линии ячменя, отличающиеся аллельным состоянием *Blp1* и *Ppo2*: 'BW' (NGB22812; i:Bw*blp1Ppo2*) – служит генетическим фоном для остальных трех линий; '4xBW' (i:Bw*blp1ppo2*); 'BLP' (NGB20470; i:Bw*Blp1Ppo2*); и '240xBLP' (i:Bw*Blp1ppo2*). Аллельное состояние гена *Ppo2* было подтверждено с помощью секвенирования. Транскрипционная активность изучаемых генов оценена отдельно в чешуях колоса и перикарпе зерна на стадии ранней восковой спелости с помощью количественной ОТ-ПЦР. С помощью биохимического анализа определено общее содержание фенольных соединений, антиоксидантная и тирозиназная активности отдельно в чешуях колоса и в зерне ячменя по методикам, описанным в [1, 2] с модификациями. Корреляционный анализ между оцененными параметрами и уровнями транскрипции изучаемых генов проведен с помощью программы STATISTICA 12.
Результаты: Изучена транскрипционная активность генов *Blp1* и *Ppo2* в чешуях колоса и в перикарпе зерна, а также их влияние на экспрессию друг друга. В отличие от гена *Blp1*, который характеризуется одинаково высокой экспрессией в изучаемых тканях у чернозерных образцов BLP и 240xBLP, уровень транскрипционной активности гена *Ppo2* варьирует в зависимости от ткани (в чешуях колоса выше, чем в перикарпе), аллельного состояния гена (пониженная экспрессия нефункционального аллеля по сравнению с функциональным) и наличия функционального аллеля гена *Blp1* (повышенная экспрессия в чернозерных образцах по сравнению с белозерными). Уровень транскрипционной активности гена *Ppo2* положительно коррелирует с тирозиназной активностью: она выше у линий с функциональным аллелем гена *Ppo2* по сравнению с линиями, несущими нефункциональный аллель этого гена, как в чешуях колоса ($r = 0{,}8685$; $p = 2{,}67\text{E-}05$), так и в зерне, очищенном от чешуй ($r = 0{,}7221$; $p = 2{,}37\text{E-}03$). Содержание фенольных соединений в исследуемых тканях имеет положительную корреляцию с антиоксидантной активность (в чешуях: $r = 0{,}6017$; $p = 1{,}76\text{E-}02$); в зерне без чешуй: $r = 0{,}9313$; $p = 4{,}57\text{E-}07$), что согласуется с данными об антиоксидантных свойствах данных соединений. При этом в чешуях колоса содержание фенольных соединений положительно коррелирует с уровнем транскрипции как гена *Blp1* ($r = 0{,}9332$; $p = 3{,}86\text{E-}07$), так и гена *Ppo2* ($r = 0{,}6793$; $p = 5{,}35\text{E-}03$), тогда как в зерне, очищенном от чешуй, содержание фенольных соединений положительно коррелирует только с уровнем транскрипции гена *Blp1* ($r = 0{,}9302$; $p = 5{,}07\text{E-}07$), что указывает на различия в функциональной активности гена *Ppo2* в различных тканях зерна.
Выводы: Благодаря использованию набора уникальных почти-изогенных линия ячменя, отличающихся аллельным состоянием генов *Blp1* и *Ppo2*, впервые выявлены тканеспецифические отличия в содержании фенольных соединений и антиоксидантной активности в чешуях колоса и в зерне ячменя в зависимости от аллельного состояния изучаемых генов.
Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ № 25-16-20101, https://rscf.ru/project/25-16-20101/.

Список литературы

1 Sharma P., Gujral H.S. Antioxidant and polyphenol oxidase activity of germinated barley and its milling fractions. *Food Chemistry.* 2010;120:673-678. doi 10.1016/j.foodchem.2009.10.059
2 Taranto F., Delvecchio L.N., Mangini G., Faro L.D., Blanco A., Pasqualone A. Molecular and physico-chemical evaluation of enzymatic browning of whole meal and dough in a collection of tetraploid wheats. *J Cereal Sci.* 2012;55:405-414. doi 10.1016/j.jcs.2012.02.005

doi 10.18699/PlantGen-2025-81

Метаболическая инженерия растений как основа для регуляции специфичности и эффективности бобово-ризобиального симбиоза

Е.А. Долгих[1, 2]*, Е.С. Канцурова[1], П.А. Кулеш[2], А.В. Долгих[1], О.А. Павлова[1], А.Д. Бовин[1], Н.В. Смирнова[1], Е.А. Сальникова[1], Р.Р. Янборисов[2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», Санкт-Петербург, Пушкин, Россия*

[2] *Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус», федеральная территория «Сириус», Краснодарский край, Россия*

** dol2helen@yahoo.com*

Цель: В основе развития симбиоза между бобовыми растениями и клубеньковыми бактериями (ризобиями) лежит сигнальный обмен между партнерами. В ответ на инокуляцию и узнавание растением сигнальных молекул ризобий Nod-факторов, активируется набор внутриклеточных регуляторов, которые участвуют в передаче сигнала, что в конечном итоге приводит к появлению новых органов – азотфиксирующих клубеньков. Увеличение эффективности симбиоза представляет собой важную задачу, поскольку от этого зависит продуктивность бобовых растений. Ранее нам удалось показать, что в процессе передачи сигнала от Nod-фактора важную роль играют фосфолипазы C и D, регулирующие образование инозитол-фосфатов и фосфатидной кислоты (ФК), а также митоген-активируемые протеинкиназы. Поскольку ФК является важным вторичным мессенджером, мы проверили гипотезу о том, что повышение уровня синтеза белков, участвующих в связывании ФК, приводит к ее накоплению в растительных тканях, что оказывает положительное влияние на симбиоз. При сверхпродукции митоген-активируемой протеинкиназы 6 (MAPK6) наблюдали значительное увеличение количества клубеньков и биомассы у композитных бобовых растений. Целью данной работы является разработка новой методологии метаболической инженерии для повышения продуктивности растений люцерны усеченной (*Medicago truncatula*) и гороха посевного (*Pisum sativum*), основанных на стимуляции активности регуляторов сигнальных путей, с использованием современных методов редактирования генома с помощью CRISPR/Cas9.

Материалы и методы: В нашей работе был протестирован метод первичного редактирования гена *MAPK6* для изменения активности кодируемого фермента путем модификации сайтов фосфорилирования в его активном центре (молекулярная фосфомимикрия), что может привести к значительному увеличению эффективности симбиоза. Получены композитные растения *P. sativum* сорта Cameor со сверхэкспрессией гена *PsMAPK6*, а также с модификацией его первичной последовательности с помощью технологии геномного редактирования CRISPR/Cas9.

Результаты: Результаты исследований показали, что сверхэкспрессия гена *MtSPHK1-PA*, кодирующего домен сфингозинкиназы 1 (MtSPHK1), связывающий ФК, стимулировала рост растений и увеличивала число клубеньков у люцерны усеченной. Кроме того, было исследовано влияние MAPK6 на развитие симбиоза. С использованием генноинженерных подходов была осуществлена сверхэкспрессия гена *PsMAPK6* в трансгенных корнях гороха, что привело к значительному увеличению количества клубеньков и биомассы таких растений. В связи с этим MAPK6 также может быть привлекательным объектом для метаболической инженерии. Активация MAPK6 может происходить в результате фосфорилирования остатков треонина и тирозина в активном центре фермента. Мы разработали новые подходы для первичного редактирования (prime editing) гена *PsMAPK6* с использованием технологии CRISPR/Cas9. При анализе полученных растений выявлено существенное увеличение количества клубеньков на трансгенных корнях гороха, как и в случае сверхэкспрессии этого гена.

Выводы: Таким образом, возможность использования методов метаболической инженерии для получения бобовых растений с повышенной эффективностью симбиоза является перспективной для регуляции их продуктивности.

Финансирование: Работа была поддержана РНФ 24-16-00180.

doi 10.18699/PlantGen-2025-82

Создание генетических конструкций для экспрессии мутантных форм белка eIF4E и проверка их функциональности в дрожжах и растениях

А.С. Дрыкин[1]*, О.Л. Ражина[1, 2], В.В. Никаноркина[1], М.В. Лебедева[1], В.В. Таранов[1]
[1] *ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия*
[2] *Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия*
* *drykin.alexandr@gmail.com*

Цель: Получение генетических конструкций для проверки функциональности модифицированных факторов инициации трансляции eIF4E в дрожжах штамма Jo55, а также получение генетических конструкций для экспрессии модифицированных факторов инициации трансляции eIF4E в растениях.
Материалы и методы: На первом этапе работы были спроектированы генетические конструкции для анализа на комплементацию, то есть проверки функциональности факторов инициации трансляции eIF4E с присоединенными к ним белковыми метками. Конструкции содержали модифицированные последовательностей генов, кодирующих факторы инициации трансляции eIF4E табака и картофеля, а также HA-tag или C-Myc-tag – белковые метки, которые могут быть распознаны антителами и использованы при использовании вестерн-блот анализа. Однако такие белковые метки могут нарушить функциональность модифицированных факторов. Конструкций существует два вида: с белковой меткой на N конце кодируемого белка и с меткой на C конце. Такая вариативность позволит нам проверить, с какой стороны целесообразнее присоединить метку, чтобы не нарушить функциональность белка eIF4E. В нашей работе были использованы дрожжи штамма Jo55. У данного штамма дрожжей инактивирован хромосомный ген eIF4E благодаря вектору YCp33supex- h4E URA3. Этот вектор кодирует фактор eIF4E человека под контролем глюкозо-репрессируемого, галактозо-зависимого промотора. Такая особенность позволяет дрожжам Jo55 выживать на среде, содержащей галактозу, а на среде с глюкозой этот ген «выключается». Таким образом, мы можем трансформировать дрожжи конструкцией, содержащей последовательность модифицированного eIF4E и посадить дрожжи на среду с глюкозой. Благодаря этой среде у дрожжей репрессируется человеческий eIF4E, но индуцируется экспрессия модифицированного варианта фактора, функциональность которого нужно проверить. Это значит, что если дрожжи смогут оставаться жизнеспособными, то можно сделать вывод, что наши модифицированные факторы являются функциональными. Для трансформации дрожжей будет использован вектор pJo55, разработанный специально для проверки функциональности факторов инициации трансляции. Клонирование конструкций в плазмиду происходило с помощью сайтов рестрикции BsaI. Конструкции встраивались в плазмиду между GAP промотором и CYC1 терминатором. Помимо конструкций для дрожжей, были спроектированы генетические конструкции на основе вектора pBI121 экспрессии модифицированных факторов инициации трансляции, взятых из генома табака и картофеля. Были подобраны праймеры для клонирования факторов в плазмиду pBI121 по сайтам рестрикции BsaI. Плазмида pBI121 содержит CaMV35S промотор и NOS терминатор, что позволяет экспрессировать белки eIF4E в растениях. Эти конструкции будут использованы для агробактериальной трансформации растений табака *N. tabacum*. В дальнейшем такие растения будут искусственно заражены вирусом Y картофеля, для проверки у них устойчивости к этому вирусу.
Результаты: В рамках работы были созданы генетические конструкции на основе вектора pJo55 для проверки модифицированных факторов инициации трансляции eIF4E, а также конструкции на основе вектора pBI121 для экспрессии вышеупомянутых факторов в растениях. Последовательности конструкций были отсеквенированы для проверки их соответствия схеме проектируемых конструкций.
Выводы: Система на основе дрожжей Jo55 позволяет проверить функциональность факторов инициации трансляции, а система на основе *N. tabacum* позволяет проверить устойчивость растений к вирусу Y картофеля.
Финансирование: Исследование выполнено в рамках государственного задания номер FGUM-2022-0004.

doi 10.18699/PlantGen-2025-83

Полногеномный поиск вариантов, ассоциированных с урожайностью пшеницы

М.А. Дук[1, 2]*, В.С. Юсов[3], М.Г. Евдокимов[3], А.А. Канапин[2], М.Г. Самсонова[2], А.Л. Шпигель[3]
[1] *Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе, Санкт-Петербург, Россия*
[2] *Санкт-Петербургский Политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия*
[3] *Омский аграрный научный центр, Омск, Россия*
* *duk@mail.ioffe.ru*

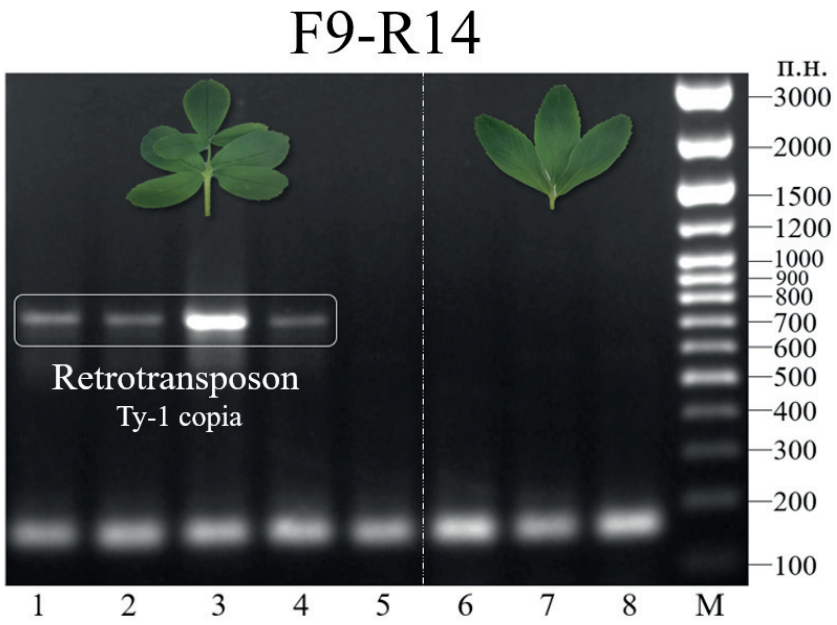
Цель: Обнаружение новых генетических вариантов, ассоциированных с урожайностью, а также другими признаками, связанными с качеством зерна у пшеницы.
Материалы и методы: Были использованы генетические данные 149 сортов пшеницы (*Triticum turgidum* subsp. *durum*) *Triticum durum* Desf. Полевые опыты были заложены 2021–2023 гг. по пару в специализированном селекционном севообороте Омского АНЦ. Экстракцию ДНК проводили из семидневных проростков зерен пшеницы в лаборатории молекулярной генетики Омского АНЦ. Секвенирование образцов, подготовленных по методу генотипирования путем секвенирования, проводили в Курчатовском геномном центре на приборе Novaseq 6000 с использованием протокола Illumina. Прочтения Illumina выравнивали на референсный геном геному Svevo.v1 (INSDC Assembly GCA_900231445.1) с использованием программы bwa с параметрами по умолчанию. Поиск однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) выполнен программой NGSEP. Фильтрация ОНП выполнена с использованием VCFtools по частоте минорной аллели большей 0.05. Результирующее количество ОНП составило 81035. Для поиска ассоциаций использовались пакеты для R IIIVmrMLM в режиме Single_env и GAPIT3 с использованием моделей GLM, MLM, SUPER, FarmCPU, Blink. Функциональная аннотация генов, в которые попали найденные варианты, получена на основе автоматической аннотации баз данных UniProt и InterPro.
Результаты: При анализе фенотипов было обнаружено, что период всходы – колошение практически не зависит от года посева, тогда как период всходы – восковая спелость зависит от внешних условий. Было показано, что урожайность положительно коррелирует с весом тысячи семян, количеством семян в главном колосе и весом семян с главного колоса, и отрицательно коррелирует с периодом всходы – колошение во все три года наблюдения. Корреляция между количеством колосков в главном колосе и остальными признаками, связанными с урожайностью, не была явно выражена. В результате анализа GWAS разными методами было обнаружено 204 QTN ассоциированных с 7 рассматриваемыми признаками, измеренными в 2021–2023 годах, 8 из них были ассоциированы с несколькими признаками, 5 из них были найдены несколькими моделями. Все найденные QTN были подтверждены с помощью t-теста для исключения возможных ложноположительных ассоциаций. Из 204 найденных QTN 53 попадали в тело 48 известных генов. Согласно аннотации баз данных UniProt и InterPro, 12 из этих генов отвечают за защиту растения от патогенов и других организмов и устойчивости к заболеваниям, 5 – за транспорт железа и других металлов, 5 – за трансмембранный транспорт. Среди этих генов встречаются также гены, регулирующие рост, реакцию на тепло, метаболизм и регуляцию транскрипции и трансляции. Интересно, что в 5 генов попало несколько найденных QTN, среди них TRITD_6Bv1G087580, продукт которого участвует в связывании ионов железа, TRITD_7Av1G273330, связанный с транспортом в комплексе Гольджи, TRITD_4Bv1G189790, связанный с ДНК-метилированием, TRITD_6Av1G000110 связанный с метаболизмом жирных кислот и TRITD_4Av1G204470 связанный с защитными механизмами растения. QTN, попавшие в эти гены, были ассоциированы с несколькими признаками, такими как вес 1000 семян, вес семян с главного колоса, количество семян с главного колоса, длина периода всходы – колошение и урожайность. Расстояния между QTN, попавшими в эти гены, было менее 200 п.о.
Выводы: В результате полногеномного поиска ассоциаций были обнаружены ассоциации генетических вариантов с урожайностью пшеницы и другими признаками, связанными с урожайностью. Из всех генов, в которые попадали найденные QTN, четверть была связана с защитными механизмами растения, что может указывать на сильное влияние различных заболеваний и вредителей на урожайность растений, которую нельзя исключать из рассмотрения при выборе сортов для дальнейшего улучшения. Кроме того, обнаружено, что в 5 генов попадали близко расположенные QTN, ассоциированные с разными признаками, найденные разными моделями, что может указывать на важность этих генов при дальнейшем изучении возможности улучшения сортов.
Финансирование: Исследование поддержано федеральным грантом Минобрнауки РФ «Хлеба России» в рамках реализации соглашения № 075-15-2021-1066 от 28 сентября 2021 года.

doi 10.18699/PlantGen-2025-84

Поиск и идентификация ДНК-маркеров, ассоциированных с признаком многолисточковости у люцерны изменчивой (*Medicago varia* Mart) с использованием SRAP-анализа

В.А. Душкин*, А.О. Шамустакимова
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр кормопроизводства и агроэкологии им. В.Р. Вильямса» (ФНЦ «ВИК им. В.Р. Вильямса»), Лобня, Россия
** tan-8090@mail.ru*

Люцерна – многолетняя бобовая культура, отличающаяся высокой питательной ценностью. В ее составе содержится значительное количество белка (15–20% от сухой массы), витаминов, а также минеральных веществ. Она широко используется для производства таких кормов, как сено, сенаж, силос и травяная мука. В последние годы повышенное внимание исследователей привлекают многолисточковые формы люцерны. В настоящий момент установлено, что на проявление признака у люцерны посевной (*Medicago sativa* L.) могут влиять пять генов: *PALM1*, *KNOX*, *SPL*, *MsNAC39* и *REV*. Изучение этих генов, а также поиск новых механизмов открывает перспективы для селекции высокопродуктивных сортов с улучшенными кормовыми характеристиками и повышенной урожайностью. Цель данного исследования заключалась в поиске ДНК-маркеров, ассоциированных с признаком многолисточковости у перспективного селекционного материала люцерны изменчивой (*Medicago varia* Mart.).



Для анализа была сформирована контрастная коллекция, включающая пять многолисточковых форм и три образца с нормальной формой листа. Генетический анализ проводился с использованием SRAP-маркерной системы (от англ. *Sequence-Related Amplified Polymorphism*), которая позволяет амплифицировать интрон-экзонные области генома и выявлять полиморфизмы генов, связанных с изучаемыми признаками.
С помощью 16 одиночных праймеров была составлена 31 комбинация, из которой две (F9-R14 и ME3-EM3) показали различия между образцами с многолисточковой и нормальной формой листа. С комбинацией F9-R14 у четырех из пяти многолисточковых образцов был выявлен ампликон размером 717 п.н., отсутствующий у растений с нормальной формой листа. С комбинацией ME3-EM3 у всех пяти растений с мутантной формой листа был обнаружен ампликон размером 104 п.н. В дальнейшем отличимые бэнды были вырезаны из геля, очищены и секвенированы. Анализ показал, что все последовательности выравниваются на геном растений семейства бобовые. Для комбинации F9-R14 было выявлено наличие участка копии ретротранспозона, принадлежащего к группе Ty-1-copia LTR, который, по данным GeneBank, ранее был обнаружен в геноме нута (*Cicer arietinum* L.).

doi 10.18699/PlantGen-2025-85

Регуляция активных форм кислорода и уровня паттерн-распознающих рецепторов под влиянием сигнальных молекул ризобий как основа развития бобово-ризобиального симбиоза

А.М. Дымо, П.Ю. Козюлина, О.А Павлова, Е.С. Канцурова, А.Д. Бовин, А.В. Долгих, Е.А. Долгих
Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия
** dymoalina@yandex.ru*

Цель: При формировании внутриклеточного симбиоза клубеньковые бактерии (ризобии) способны эффективно подавлять иммунный ответ со стороны бобовых растений. Оказалось, что такой активностью обладают сигнальные молекулы Nod-факторы, которые выделяются ризобиями. Однако как осуществляется такая регуляция остается практически неизученным. Мы предположили, что Nod-факторы могут активировать гены ферментов, влияющих на стабильность паттерн-распознающих рецепторов (ПРР) и стимулируемых ими митоген-активируемых протеинкиназ (МАР-киназ), что может приводить к подавлению иммунного ответа со стороны растений. В связи с этим, целью нашей работы было выявить регуляторы, которые активируются у растений под влиянием Nod-факторов и участвуют в контроле иммунного ответа.
Материалы и методы: Для поиска возможных регуляторов иммунного ответа у растений, был проведен транскриптомный и протеомный анализ корней гороха, обработанных Nod-факторами. Для проверки возможности взаимодействия выявленных новых регуляторов с ПРР и МАР-киназами был осуществлен их синтез в листьях табака с помощью агробактериальной трансформации. Для этого были получены конструкции в векторе pBIN19. Для изучения роли MAPKK6 и рецептора LYK11 при бобово-ризобиальном симбиозе были получены конструкции со сверхэкспрессией кодирующих их генов. Поиск дополнительных регуляторов, взаимодействующих с MAPKK6, был проведен с помощью скрининга библиотек в дрожжевой двугибридной системе.
Результаты: Транскриптомный анализ корней гороха, обработанных сигнальными молекулами ризобий Nod-факторами, позволил выявить гены Е3-убиквитин-лигаз и фосфатаз, которые могут влиять на стабильность ПРР и активность МАР-киназ. Протеомный анализ корней гороха показал, что под влиянием Nod-факторов существенно увеличивался синтез ферментов с антиоксидантной активностью (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионтрансферазы и тиоредоксинов), которые блокируют избыточное накопление АФК и подавляют окислительный стресс. Одним из ключевых ПРР у гороха является рецептор LYK9, способный узнавать муреин ризобий. При передаче сигнала от LYK9 активируется комплекс МАР-киназ и, прежде всего, MAPKK6. В композитных растениях гороха со сверхэкспрессией гена *MAPKK6* наблюдали значительное увеличение уровня экспрессии защитных генов (WRKY, PAL, PUB22). С помощью агробактериальной трансформации листьев *Nicotiana benthamiana* нам удалось синтезировать выявленную в транскриптоме Е3-убиквитин-лигазу, которая была способна снижать содержание и подавлять активность рецептора LYK9. С помощью скрининга библиотек и анализа в дрожжевой дигибридной системе нам удалось выявить фосфатазы, которые потенциально могут взаимодействовать с MAPKK6. Нами впервые был выявлен LysM-содержащий рецептор LYK11, способный узнавать Nod-факторы и подавлять иммунный ответ со стороны растений. Локализация активности промотора гена рецептора LYK11 и его геномное редактирование позволит выявить его функции при развитии бобово-ризобиального симбиоза.
Выводы: Было установлено, что Nod-факторы ризобий способны подавлять избыточное образование АФК, а также активировать гены убиквитин-лигаз и фосфатаз, влияющие на стабильность ПРР и МАР-киназ, что лежит в основе подавления иммунного ответа со стороны растений. Был впервые выявлен рецептор, способный при узнавании Nod-факторов подавлять иммунный ответ у растений гороха при бобово-ризобиальном симбиозе.
Финансирование: РНФ № 24-16-00180.

doi 10.18699/PlantGen-2025-86

Растения картофеля сорта Симфония с нокаутом по гену вакуолярной инвертазы: применения в селекции и в исследованиях механизмов регуляции углеводного метаболизма

А.А. Егорова[1]*, Ю.А. Гуреева[2], А.С. Батов[2], Н.Е. Костина[1], С.В. Герасимова[1], А.В. Кочетов[1]
[1] *Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия*
[2] *СибНИИРС – филиал ИЦиГ СО РАН, р.п. Краснообск, Новосибирская область, Россия*
* *egorova@bionet.nsc.ru*

Цель: В условиях умеренного климата уборка урожая картофеля производится только один раз в год, поэтому для обеспечения сохранности клубней требуется их хранение при низких температурах (4–6 °C). Однако в данных условиях наблюдается процесс холодового осахаривания, во время которого крахмал гидролизуется до редуцирующих сахаров, преимущественно глюкозы и фруктозы. В ходе термической обработки, например, при производстве картофельных чипсов, указанные сахара вступают в реакцию с аминокислотами, что приводит к образованию темного цвета и горького запаха продукции и ухудшает ее товарные качества. В связи с этим актуальной задачей является выведение сортов картофеля, устойчивых к холодовому осахариванию. В настоящее время российские предприятия, специализирующиеся на выпуске картофельных чипсов и картофеля фри, в основном используют зарубежные сорта, что создает потребность в отечественных устойчивых генотипах.
Известно, что вакуолярная инвертаза (*Pain-1)* вносит значительный вклад в холодовое осахаривание, а также играет важную роль в росте и развитии растений. Ранее нами получены линии картофеля сорта Симфония с нокаутом всех четырех аллелей гена *Pain-1*, что привело к снижению уровня глюкозы и фруктозы в клубнях при хранении на холоде и, соответственно, к светлой окраске чипсов, приготовленных из таких клубней. Однако нокаут данного фермента не оказывает влияния на основные ростовые параметры полученных линий [1]. Целью настоящего исследования являлось включение полученных генно-редактированных линий в селекционный процесс, а также изучение влияния нокаута вакуолярной инвертазы на работу других генов углеводного метаболизма в процессе развития растений картофеля.
Материалы и методы: Гибридизация картофеля осуществлялась вручную, в качестве материнских растений использовались нокаутные линии, а сорт Гала – в качестве отцовских. У полученных гибридов проводился анализ на наличие мутаций в сайтах-мишенях и встройки трансгена.
Для исследования экспрессии генов в корневой системе нокаутных линий выделяли суммарную РНК из корней пробирочных растений. Уровень транскрипции генов цитоплазматических инвертаз (*NINV1*, *NINV7*, *NINV5*) и сахарозосинтазы (*SUS4*) оценивался методом количественной ПЦР.
Результаты: В результате работы было получено 86 гибридов, из которых 45 не содержали встройки трансгена. У большинства нетрансгенных гибридов выявлены два генно-редактированных аллеля вакуолярной инвертазы, мутации в которых соответствовали мутациям в исходных линиях. В ряде растений обнаружены три или пять аллелей вакуолярной инвертазы, а также идентичные аллели с мутациями. Данные результаты позволяют предположить наличие нарушений расхождения хромосом в мейозе и образование несбалансированных гамет, что характерно для тетраплоидных сортов картофеля. У некоторых трансгенных гибридов выявлены мутации всех четырех аллелей, при этом две из них возникли *de novo*, что указывает на продолжающуюся активность нуклеазы Cas9. Кроме того, анализ экспрессии цитоплазматических инвертаз в корнях нокаутных растений выявил повышение уровня транскрипции генов *SUS4* и *NINV5* по сравнению с контрольной линией.
Выводы: Полученные результаты демонстрируют возможность успешного использования нокаутных по гену *Pain-1* линий в качестве доноров для селекционной работы. В дальнейшем планируется проведение дополнительных тестирований и скрещиваний для выведения нового сорта картофеля, обладающего устойчивостью к холодовому осахариванию. Кроме того, выявленное повышение экспрессии генов *SUS4* и *NINV5* в корнях нокаутных растений позволяет предположить наличие компенсаторных механизмов, минимизирующих влияние нокаута гена *Pain-1* на ростовые характеристики картофеля.
Финансирование: Работы по поддержанию и генотипированию коллекции поддержаны Курчатовским геномным центром ИЦиГ СО РАН, проекты 075-15-2019-1662 и 075-15-2025-516. Исследования механизмов регуляции углеводного метаболизма картофеля поддержаны бюджетным проектом FWNR-2025-0020.

Список литературы

1 Egorova A.A., Zykova T.E., Kostina N.E. et al. Reduction in Cold-Induced Sweetening by Cas9 Endonuclease-Mediated Knockout of the POTATO VACUOLAR INVERTASE 1 Gene in the Cultivar ‘Symfonia’. *Potato Res*. 2024. doi 10.1007/s11540-024-09800-6

doi 10.18699/PlantGen-2025-87

Состав свободных аминокислот в тканях овса посевного в условиях стрессового воздействия почвенного засоления

Д.И. Ерёмин
Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Северного Зауралья – филиал Тюменского научного центра Сибирского отделения Российской академии наук, Тюмень, Россия
soil-tyumen@yandex.ru

Цель: Изучение возрастающего уровня засоления на аминокислотный состав овса посевного на ранних этапах онтогенеза.
Материалы и методы: Исследование проведено в модельном опыте с искусственным засолением хлористым натрием на двух пленчатых сортах овса (Сириус, Отрада) обладающих контрастной реакцией на засоление: Сортовая принадлежность была подтверждена методом нативного электрофореза. Семена для исследований были выращены на опытном поле НИИСХ Северного Зауралья. В опыте изучали следующие концентрации NaCl: 1, 3, 5, 7 и 10 г/л, в качестве контроля использовали дистиллированную воду. Проращивание проводили методом рулонных культур на 25 растениях. После 7 суток проращивания определяли лабораторную всхожесть. Аминокислотный состав определяли в корнях и ростках овса. Анализ проводили методом капиллярного электрофореза на приборе «Капель-205». Исследования проводили в молодежной лаборатории геномных исследований в растениеводстве.
Результаты: В ходе исследований было установлено, что при отсутствии солевого стресса содержание свободных аминокислот в изучаемых сортах не имело существенных различий. Однако отношение их в ростке к корням отличало выбранные сорта. В солеустойчивом сорте Отрада отношение содержания аминокислот в ростке и корнях по отдельным аминокислотам составляло: пролина – 6,5; изолейцина – 4,7; серина – 8,5. В сорте Сириус, который обладал максимальной чувствительностью к хлориду натрия данное отношение по отмеченным аминокислотам были в 3–5 раз ниже. Химический анализ показал, что при концентрации хлорида натрия до 3,0 г/л содержание свободных аминокислот в разных частях овса не претерпевает достоверных изменений. Аминокислотный состав овса на ранних этапах онтогенеза при высокой концентрации хлорида натрия существенно меняется, что свидетельствует об ответной реакции на солевой стресс. Также меняется и соотношение аминокислот в ростке и корнях овса. Наиболее сильные изменения происходят в отношении пролина, изолейцина и серина. Необходимо отметить, что перечисленные аминокислоты синтезируются в надземных частях овса и, посредством проводящей системы, транспортируются в корни. Тем самым в корнях сорта Отрада содержание пролина, изолейцина и серина возрастает в 5 раз относительно контроля. У сорта Сириус превышения более чем в 2 раза не наблюдалось. Данный факт указывает на нарушение транспортировки аминокислот к месту наибольшего стресса – к корням. Накопление пролина при солевом стрессе обеспечивает сохранность биохимических реакций и препятствует разрушению клеток. Наиболее интересной аминокислотой является серин, из которого синтезируется глицинбетаин. Его аккумуляция во время стресса, обусловленного абиотическими факторами, вызывает положительно влияние на функциональность ферментов и целостность мембран в условиях солевого стресса. В чувствительном к хлоридному засолению сорте Сириус содержание изолейцина до концентрации 5 г/л не изменялось, но при дальнейшем повышении концентрации было отмечено достоверное снижение содержания изолейцина как в ростке, так и корнях. В солеустойчивом сорте «Отрада» с повышением степени засоления происходило увеличение содержания изолейцина, особенно в корнях, где превышение было в 15 раз больше контроля. Расчет корреляции показал прямую связь между отношением суммы трех аминокислот (изолейцин, пролин и серин) в ростках и корнях овса к лабораторной всхожести на максимальном уровне засоления.
Заключение: Таким образом, хлоридно-натриевое засоление оказало значительное влияние на метаболизм в период прорастания, в результате приспособительных реакций изменилось соотношение аминокислот в ростке и корнях овса посевного. Значимые изменения в содержания изолейцина, пролина и серина происходили при концентрации хлорида натрия более 7 г/л. Отношение суммы этих аминокислот в ростке и корнях коррелирует с лабораторной всхожестью и может служить точным биохимическим маркером для выделения солеустойчивых генотипов овса в ходе селекционной работы. Изменения свидетельствовали об участии этих аминокислот в синтезе стрессовых белков и других соединений в процессе адаптации растений к почвенному засолению.
Финансирование: Работа выполнена за счет государственного задания 124022900011-6 и при поддержке Западно-Сибирского межрегионального научно-образовательного центра мирового уровня.

doi 10.18699/PlantGen-2025-88

MDSearch: алгоритм выбора минимального информативного набора SNP для сравнительного анализа широкого спектра видов

А.С. Ермолаев*, М.А. Самарина, Д.С. Ульянов, П.Ю. Крупин, Г.И. Карлов, М.Г. Дивашук
Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, 127550, Россия
** alerm@al-erm.ru*

Цель: Набор SNP-маркеров часто используется для анализа наборов сортов широкого спектра сельскохозяйственных видов. Во многих случаях, не требуется использовать все найденные маркеры для однозначной дискриминации всех образцов в наборе. Исходя из этого, может быть определен минимальный информативный набор (МИН) маркеров, который однозначно отличит все пары образцов в наборе. Ранее создавались программы, способных находить МИН маркеров для набора образцов [1], однако в настоящее время эти программы недоступны для загрузки. В то же время поиск МИН маркеров для набора образцов является важной задачей в селекции и семеноводстве [2], что делает актуальным создание алгоритмов для решения данной задачи.

Материалы и методы: MDSearch написан на Python3 и находится в открытом доступе на Github (https://github.com/alermol/MDSearch). Пользователь предоставляет на вход файл в формате VCF, содержащий генотипы целевых образцов. Файл может содержать пропущенные генотипы, что значительно расширяет возможности выбора МИН, позволяя использовать его для данных, полученных с помощью технологий, дающих неравномерное покрытие (Genotyping-by-sequencing). Поддерживаются VCF любой плоидности, что важно для сельскохозяйственных видов, среди которых множество видов с полиплоидными геномами. При запуске программы пользователь может определить минимальное количество SNP, которые будут отличаться у пары образцов, что позволяет контролировать степень устойчивости созданного МИН к ошибкам генотипирования. По умолчанию MDSearch подбирает один набор, содержащий МИН, однако пользователь может определить как количество маркеров в итоговом наборе, так и количество наборов, которые подбирает программа. В случае необходимости расширить МИН до требуемого количества маркеров, выбираются маркеры с наибольшим полиморфизмом на основании параметра PIC (Polymorphic Index Content).

Алгоритм MDSearch включает в себя два основных шага для поиска МИН. На первом этапе происходит прямой жадный отбор маркеров, имеющих наибольшую частоту минорного аллеля (MAF). Отбор происходит до тех пор, пока полученный набор не станет способен однозначно дискриминировать набор образцов как минимум по одному маркеру или по количеству, заданному пользователем при запуске. Когда такой набор найден, происходит минимизация набора путем обратного отбора. Из набора убирается один случайный маркер; если полученный набор теряет дискриминационную способность, маркер возвращается в набор, и убирается другой маркер. Этап минимизации может выполняться параллельно, что повышает скорость нахождения МИН. В каждом потоке происходит независимый процесс минимизации. На финальном этапе полученный МИН может расширяться наиболее полиморфными маркерами до размера, определенного пользователем при запуске программы. Полученный МИН маркеров возвращается пользователю в виде VCF и может быть использован в дальнейшем анализе.

Результаты: Нами была создана программа для поиска МИН маркеров MDSearch. Данная программа позволяет работать с вариантами, полученными из широкого диапазона видов с различной структурой генома, и позволяет быстро выбрать один или несколько наборов маркеров для их однозначной дискриминации.

Выводы: MDSearch позволяет эффективно решать задачу поиска МИН маркеров для заданного набора образцов и может быть полезна в селекционном и семеноводческом процессах для защиты авторских прав и контроля чистоты семенного материала. Результаты апробации инструмента MDSearch опубликованы [3].

Финансирование: Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, государственное задание FGUM-2023-0005.

Список литературы

1 Gale K., Jiang H., Westcott M. An optimization method for the identification of minimal sets of discriminating gene markers: application to cultivar identification in wheat. *J Bioinform Comput Biol*. 2005;3(2):269-279
2 Henning J.A., Coggins J., Peterson M. Simple SNP-based minimal marker genotyping for *Humulus lupulus* L. identification and variety validation. *BMC Res Notes*. 2015;8(1):542
3 Ermolaev A. et al. A Tool for the Design of the Minimal Fingerprinting SNP Set: Use Case for Barley. *Agronomy*. 2024;14(8):1802

doi 10.18699/PlantGen-2025-89

Исследование роли ксилоглюкан эндотрансглюкозилазы / гидролазы 19 *Nicotiana benthamiana* (NbXTH19) в развитии инфекции вируса табачной мозаики

Н.М. Ершова[1]*, Е.В. Шешукова[1], К.А. Камарова[1], А.А. Антимонова[1, 2], Т.В. Комарова[1, 2]
[1] *Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия*
[2] *Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва Россия*
* *ershova@vigg.ru*

Цель: Исследование роли NbXTH19 в вирусном патогенезе у *Nicotiana benthamiana*.
Материалы и методы: Экспериментальная работа выполнена на модельном растении *N. benthamiana*, относящемся к семейству *Пасленовые*. Для заражения растений Х вирусом картофеля (ХВК) использовали вирусные векторы на основе генома ХВК: pPVX или pPVX:frXTH19 (для индукции сайленсинга). Доставку генетического материала в клетки листьев растений осуществляли с помощью *Agrobacterium tumefaciens*, штамм GV3101. Оценку эффективности развития инфекции вируса табачной мозаики (ВТМ) проводили при использовании вектора ВТМ:GFP, созданного на основе генома ВТМ, в котором ген белка оболочки вируса заменен на *GFP* для визуализации очагов инфекции. Площадь очагов определяли, используя программное обеспечение ImageJ. Оценку уровня накопления РНК осуществляли методом ПЦР в реальном времени, предваряемой обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР).
Результаты: Растительная клеточная стенка (КС) поддерживают форму и размер клетки, а также обеспечивают механическую прочность, необходимую для выдерживания внешних нагрузок и сохранения внутреннего тургора. Белки КС класса ксилоглюкан эндотрансглюкозилаз/гидролаз (XTH) необходимы для синтеза и удлинения первичной КС [4]. Однако появляется все больше данных, что XTH участвуют в адаптации растения к различным стрессам, в частности в ответах на вирусную инфекцию [3]. Ранее в нашей лаборатории было показано, что экспрессия *XTH*, имеющего наибольшую степень сходства с *XTH5 Arabidopsis thaliana* и *XTH19 N. tabacum,* повышается при инфекции ХВК *Nicotiana benthamiana* [2]. В дальнейшем этот ген был обозначен *NbXTH19* [1]. В рамках настоящей работы для изучения свойств и функций NbXTH19 создана модельная система, в которой экспрессия *NbXTH19* подавлена с помощью вирус-индуцируемого сайленсинга. Был сконструирован вирусный вектор pPVX:frXTH19 на основе генома ХВК, кодирующий полную инфекционную копию вируса, но содержащий дуплицированный промотор гена белка оболочки. Под контролем этого субгеномного промотора находился 300-нт фрагмент кодирующей области *NbXTH19*. Системная инфекция растений вектором pPVX:frXTH19 приводит к 15-кратному подавлению экспрессии NbXTH19 по сравнению с контрольными растениями с системной инфекцией ХВК (группа, зараженная pPVX). При этом важно отметить, что сама по себе инфекция ХВК вызывает повышение уровня накопления мРНК NbXTH19 в 4.5 раза по сравнению с mock-инокулированными растениями. Листья растений с подавленной (группа pPVX:frXTH19) и повышенной экспрессией NbXTH19 (группа pPVX) заражали ВТМ:GFP с помощью агроинфильтрации. Размеры полученных очагов инфекции отражают эффективность межклеточного транспорта ВТМ:GFP. Количественный анализ доли очагов инфекции ВТМ разного размера показал, что наиболее эффективный ближний транспорт ВТМ:GFP коррелирует с повышенной экспрессией *NbXTH19*, а подавление экспрессии *NbXTH19* является сдерживающим фактором. Однако уровень накопления вирусной РНК показал обратную корреляцию: при пониженной экспрессии *NbXTH19* вирусные транскрипты накапливались примерно в 4 раза эффективнее по сравнению с контрольной группой.
Выводы: *NbXTH19* является позитивным регулятором межклеточного транспорта вируса табачной мозаики, но не его репродукции.
Финансирование: Исследование выполнено за счет гранта РНФ № 19-74-20031, https://rscf.ru/project/19-74-20031/.

Список литературы

1 Шешукова Е.В., Ершова Н.М., Антимонова А.А., Камарова К.А., Комарова Т.В. Сборник тезисов XI Международной конференции молодых ученых: биоинформатиков, биотехнологов, биофизиков, вирусологов, молекулярных биологов и специалистов фундаментальной медицины. Разд. V. 2024;573-574
2 Ershova N., Sheshukova E., Kamarova K., Arifulin E., Tashlitsky V., Serebryakova M., Komarova T. *Front Plant Sci*. 2022;13:1041867
3 Kozieł E., Otulak-Kozieł K., Bujarski J.J. *Front Microbiol*. 2021;12:656809
4 Sulová Z., Takáčová M., Steele M.N., Fry C.S., Farkaš V. *Biochem J.* 1998;330:1475-1480

doi 10.18699/PlantGen-2025-90

Изучение влияния нокаута гена *MtWOX9-1* на способность растений *Medicago truncatula* к регенерации

Е.П. Ефремова*, В.Е. Творогова, Л.А. Лутова
Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия
** elena.efremova@spbu.ru*

Цель: Гены семейства *WOX (WUSCHEL-LIKE HOMEOBOX),* кодирующие транскрипционные факторы с гомеодоменом, являются важными регуляторами клеточной пролиферации и дифференцировки у растений. Ранее в наших исследованиях мы обнаружили, что ген *MtWOX9-1*, представитель промежуточной клады, активирует соматический эмбриогенез у *Medicago truncatula*. Целью настоящего исследования является изучение влияния нокаута гена *MtWOX9-1* на способность к регенерации у *M. truncatula.*
Материалы и методы: Реализация поставленной цели достигалась с помощью широкого спектра современных методов генной инженерии, а также технологии культивирования растений *in vitro*.
Результаты: С помощью технологии редактирования CRISPR-Cas9 были получены линии люцерны с нокаутом гена *MtWOX9-1.* Мы оценили способность к индукции соматического эмбриогенеза у эксплантов растений с нокаутированным геном *MtWOX9-1* в разных системах культивирования *in vitro.*
Выводы: В настоящем исследовании мы обнаружили, как потеря функции *MtWOX9-1* влияет на регенерационный потенциал у люцерны усеченной.
Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ № 25-26-00218 «Адаптация регуляторов развития растений для биотехнологии с помощью методов геномного редактирования», https://rscf.ru/project/25-26-00218/.

doi 10.18699/PlantGen-2025-91

Пирамидирование различных чужеродных генов в геноме мягкой пшеницы с помощью ДНК-маркеров

Т.Т. Ефремова*, Е.В. Чуманова, Е.А. Косяева, К.В. Соболев
Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
** efremova@bionet.nsc.ru*

Цель: Создание и изучение линий яровой мягкой пшеницы с несколькими генами устойчивости к бурой листовой ржавчине и голубой окраской зерна с применением молекулярных маркеров.
Материалы и методы: Для гибридизации голубозерную линию сорта Саратовская 29 (С29) с замещением хромосом 4Th(4B) от *Thinopyrum ponticum* скрестили с двумя линиями, несущими транслокации и замещение хромосом от *Th. ponticum* и *Secale cereale,* а также с сортом Мульти 6R (любезно предоставленным С.Н. Сибикеевым). Эти образцы несут идентифицированные гены устойчивости к болезням: *Lr26/Pm8/Sr31/Yr9* от *S. cereal, Lr19/Sr25* от *Th. ponticum* и *Lr6Agi1/Pm6Agi/ Sr6Agi* от *Th. intermedium.* Линия С29 4Th(4B) несет ген *Ba1,* контролирующий голубую окраску алейронового слоя зерна. Для ускорения отбора целевых генов использовали молекулярные маркеры. Кроме того, получен набор интрогрессивных линий (ИЛ 5, ИЛ 6, ИЛ 9, ИЛ 10) яровой мягкой пшеницы, устойчивых к листовой ржавчине, несущих комбинацию транслокаций 7DS. 7DL-7Ae#1L, 1RS.1BL и замещение хромосом 6Agi (6D). Объектом исследования являлись пять голубозерных линий (Blue 2, Blue 3, Blue 4, Blue 7 и Blue 8) и четыре интрогрессивные линии (ИЛ 5, ИЛ 6, ИЛ 9, ИЛ 10) яровой мягкой пшеницы устойчивые к бурой ржавчине. В полевых условиях Новосибирской обл. степень устойчивости оценивали по шкале, рекомендованной CIMMYT. Провели анализ содержания антоцианов, а также микро- и макроэлементов (Zn, Mg, Mn, Ca, Cu, Fe и K) в цельнозерновой муке изученных голубозерных линий.
Результаты: Проведенный молекулярно-генетический анализ показал, что все пять голубозерных линий несут ген *Ba1* от *Th. ponticum.* Для диагностики хромосомы 4Th был использован маркер ThMYC4ESp (4Th), с помощью которого был выявлен продукт амплификации размером 450 пн, что подтверждает наличие хромосомы от пырея с доминантным геном *Ba1*. Проведена идентификация генов *Lr* с использованием молекулярных маркеров. Установлено, что голубозерная линия Blue 2 по результатам ПЦР несет доминантный ген устойчивости к бурой ржавчине *Lr6Agi1* от *Th. intermedium.* У растений линий Blue 3, Blue 4, Blue 7 и Blue 8 выявлено присутствие различных сочетаний генов *Lr19* и *Lr26*. У линий Blue 3 и Blue 7 с использованием маркеров SCS265 и Sec1Gene идентифицировали фрагменты длиной 512 и 1160 п.н., что указывает на присутствие двух генов *Lr19* и *Lr26* соответственно. У линий Blue 4 и Blue 8 были выделены отдельные растения с генами *Lr19* или *Lr26.* Цитогенетический анализ показал, что большинство голубозерных линий являются цитологически стабильными и имеют в М1 мейоза 21 бивалент. В полевых условиях взрослые растения голубозерных линий проявили устойчивый тип реакции (R) к возбудителю листовой ржавчины, в то время как растения линии С29 4Th(4B) – восприимчивость к патогену (S). Показано, что содержание антоцианов превышало показатели контроля сорта С29 (7,8 мкг/г) и составило от 32,8 мкг/г (Blue4) до 51,2 мкг/г (Blue8). Линии с голубым зерном отличаются повышенным содержанием макро- и микроэлементов, чем родительские образцы с красным зерном. Так, содержание Fe и Zn у линии Blue 3 составило 85,5 и 93,4 мг/кг соответственно. Содержание белка голубозерных линий составило – 17-24%, а клейковины – 36–50%. По признакам продуктивности линии Blue 2, Blue 7 и Blue 8 оказались более урожайными, чем родительская линия С29 4Th(4B). С помощью ПЦР-анализа у гибридов F_4 ИЛ 5, ИЛ 6, ИЛ 9 и ИЛ 10 были выделены растения с комбинацией генов *Lr6Agi1* + + *Lr19* + *Lr26.* Изучение интрогрессивных линий показало, что комбинация транслокаций и замещений 7DS. 7DL-7Ae#1L + 1RS.1BL + 6Agi (6D) определяет высокую устойчивость к листовой ржавчине. Установлено, что линия ИЛ 6 обладает высокими показателями числа и массы зерна растения.
Выводы: Присутствие пирамиды чужеродных транслокаций и замещений хромосом у изученных линий подтверждено ПЦР анализом с использованием праймеров. Исследования голубозерных и интрогрессивных линий показали, что комбинация генов *Lr19+Lr26* и гена *Lr6Agi1* определяет высокую устойчивость к листовой ржавчине. Линии с голубым зерном отличаются повышенным содержанием антоцианов, а также макро- и микроэлементов, чем родительские образцы с красным зерном. Полученные линии с голубой окраски зерна и высоким содержанием антоцианов, Fe и Zn могут быть использованы в практической селекции.
Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ (№ 24-26-20028) и Министерства науки и инновационной политики Новосибирской области (№ р-99).

doi 10.18699/PlantGen-2025-92

Анализ экспрессии генов льна для представительной выборки органов/тканей

Д.А. Жернова[1]*, А.А. Архипов[1], Т.А. Рожмина[2], Е.В. Борхерт[1], Е.Н. Пушкова[1], Н.В. Мельникова[1], А.А. Дмитриев[1]

[1] *Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, Россия*
[2] *Федеральный научный центр лубяных культур, Торжок, Россия*
** zhernova.d@ya.ru*

Цель: Провести анализ экспрессии генов льна для представительной выборки органов/тканей, получить высококачественную аннотацию генома и транскриптомную карту.

Материалы и методы: Для исследования использовали линию льна 3896. Сбор материала различных органов/тканей льна для транскриптомного анализа производили в одно и то же время дня, в двукратной биологической повторности, причем каждый образец представлял собой пул из органов разных растений. РНК из полученных сборов выделяли набором Quick-RNA Miniprep Kit (Zymo Research) и с использованием ЦТАБ с дальнейшей чисткой с применением набора CleanRNA Standard kit (Евроген). кДНК-библиотеки готовили набором QIAseq Stranded mRNA Select Kit (Qiagen). Секвенирование осуществляли на приборе NextSeq 2000 (51 + 51 н.). Транскриптомные чтения обрезали по качеству и фильтровали по длине с использованием fastp 0.23.4. Структурную аннотацию генома льна получили с помощью BRAKER3 3.0.8. Для этого использовали полученные транскриптомные данные и последовательности Viridiplantae из базы OrthoDB. Функциональную аннотацию осуществляли с применением локальной версии InterProScan 5.69-101.0. Полноту аннотации оценивали при помощи BUSCO 5.7.1 (eudicots_odb10). Анализ экспрессии генов выполнили с использованием PPline.

Результаты: На основе полученных транскриптомных данных проанализировали профили экспрессии генов в 28 различных органах/тканях льна на разных стадиях онтогенеза. С помощью этих данных мы аннотировали геном льна линии 3896 (полнота сборки согласно BUSCO – 95.6%, что является высоким показателем) и создали транскриптомную карту, которая позволит идентифицировать гены, демонстрирующие высокий уровень экспрессии в определенном органе/ткани на определенной стадии жизненного цикла растения. Такие гены, вероятно, играют ключевую роль в биологических процессах, протекающих в данном органе/ткани. Данные о профилях экспрессии генов позволят определить наиболее важные временные точки, в которых происходят интересующие нас процессы развития и формирования хозяйственно ценных признаков. К тому же транскриптомная карта дает возможность определить функции генов не только на основе анализа гомологии, но и с учетом паттернов экспрессии генов в различных органах/тканях. Таким образом, представленные транскриптомная карта и аннотация генома позволят выйти на новый уровень в молекулярно-генетических исследованиях льна, поиске ключевых генов, ответственных за ценные признаки, разработке новых подходов в селекции льна и создании улучшенных сортов.

Выводы: Получена высококачественная аннотация генома льна линии 3896, и создана транскриптомная карта для различных органов/тканей на разных стадиях онтогенеза. Полученные данные позволят значительно повысить эффективность поиска ключевых генов, ответственных за ценные признаки льна, разработки новых подходов в селекции и создании улучшенных сортов.

Финансирование: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-64-00033, https://rscf.ru/project/24-64-00033/.

doi 10.18699/PlantGen-2025-93

Баркодирование ДНК растений на федеральной территории «Сириус»

И.Ю. Журавлев[1]*, Е.С. Тюрина[1], Е.Н. Маркова[1], Н.А. Добаркина[1], М.Т. Меньков[1], А.Я. Евлаш[1], Л.Ю. Шипилина[1, 2], А.С. Розанов[1]

[1] *Направление «Биология и биотехнология растений», Научный центр генетики и наук о жизни, Научно-технологический университет «Сириус», федеральная территория «Сириус», Краснодарский край, Россия*

[2] *Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия*

** zhuravlev.iy@talantiuspeh.ru*

Цель: Оценка видового состава интродуцированных растений (ежевика *Rubus spp.*, эвкалипт *Eucalyptus spp.*) на федеральной территории «Сириус» с использованием баркодирования ДНК. Полученные данные позволят определить интродуцированные виды, оценить степень их натурализации и возможное влияние на экосистему [1].

Материалы и методы: Образцы листьев изучаемых растений были собраны на различных участках федеральной территории «Сириус» и прилегающих районах. ДНК выделяли стандартным CTAB-методом с последующей очисткой силикогелевыми колонками. Для баркодирования ДНК использовали ПЦР-амплификацию маркерных регионов ITS и *rbcL* с видоспецифичными праймерами. Ампликоны секвенировали методом AmpliSeq с последующей биоинформатической обработкой [2]. Идентификацию видов проводили путем сравнения полученных последовательностей с референсными данными в базах GenBank и BOLD.

Результаты: Анализ баркодирования позволил подтвердить видовую принадлежность изучаемых растений и выявить особенности их генетического разнообразия. Для ежевики установлена высокая внутривидовая вариабельность, что свидетельствует о присутствии нескольких близкородственных видов. У эвкалипта значительных внутривидовых различий не зафиксировано, что указывает на использование генетически однородного посадочного материала.

Выводы: Применение баркодирования ДНК является эффективным инструментом для мониторинга состава интродуцированных растений, контроля за их натурализацией и оценки экологической безопасности их интродукции, что позволяет принимать обоснованные решения по сохранению или ограничению распространения агрессивно натурализующихся видов [3]. Внедрение методов молекулярной идентификации в программу озеленения федеральной территории «Сириус» повысит эффективность управления зелеными насаждениями и позволит снизить экологические риски.

Финансирование: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-16-20042, https://rscf.ru/project/24-16-20042/.

Список литературы

1 Hebert P.D.N., Cywinska A., Ball S.L., deWaard J.R. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc Biol Sci*. 2003;270(1512):313-321. doi 10.1098/rspb.2002.2218

2 Cruaud P., Rasplus J.Y., Rodriguez L.J., Cruaud A. High-throughput sequencing of multiple amplicons for barcoding and integrative taxonomy. *Sci Rep*. 2017:7(1):41948. doi 10.1038/srep41948

3 Zhuravlev I.Yu., Menkov M.T., Markova E.N., Dobarkina N.A., Evlash A.Ya., Shipilina L.Yu., Rozanov A.S. Current methods for hybrid plant identification: a case study of blackberry. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2025;186(1):224-241. doi 10.30901/2227-8834-2025-1-224-241

doi 10.18699/PlantGen-2025-94

Эпигенетические механизмы контроля экспрессии генов, участвующих в адаптации растений *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. на северной периферии ареала

М.В. Зарецкая, О.М. Федоренко
Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия
genmg@mail.ru

Цель: Изучение эпигенетического механизма репрессии гена *FLC* – ключевого ингибитора инициации цветения, с участием длинных некодирующих РНК (*COOLAIR*, *COLDAIR* и *COLDWRAP*) и компонента комплекса PRC2 – метилтрансферазы CURLY LEAF, у растений *Arabidopsis thaliana* северных природных популяций (Карелия).
Материалы и методы: В работе использовали растения *A. thaliana*, выращенные из собранных в природе семян. Яровизацию проводили на 14-дневных проростках (стадия розетки) при 2–4 °C в течение 10, 20, 30, 40 или 63 (9 недель) дней. Время начала цветения определяли у 60 растений из каждой популяции. Содержание уровня транскриптов генов *FLC*, *CLF* и lncРНК определяли в молодых листьях растений методом ПЦР в режиме реального времени с интеркалирующим красителем SYBRGreen на приборе iCycler iQ5 (Bio-Rad, США) с набором для ПЦР-РВ (Евроген).
Результаты: Время начала цветения – это адаптивно значимый признак для растений. Оно должно происходить в строго определенное время, чтобы обеспечить максимальный репродуктивный успех и выживаемость экотипа. Карельские популяции *A. thaliana* представлены в основном поздноцветущими формами растений, которым для цветения требуется продолжительная яровизация. Однако одна из изученных популяций оказалась гетерогенной по срокам начала цветения: в ее состав входят как раннецветущие, так и позднецветущие формы растений. Увеличение длительности холодового воздействия приводило к сокращению доли поздно зацветающих растений. Выявлена неодинаковая реакция растений отдельных популяций на яровизацию различной продолжительности.
Примером эпигенетического механизма адаптации *A. thaliana* к нестабильным условиям на северной периферии ареала вида является репрессия гена *FLOWERING LOCUS C* (*FLC*), который кодирует ингибирующий цветение фактор транскрипции *FLC*. Репрессия *FLC* происходит под воздействием низких температур. Выявлены особенности экспрессии гена *FLC*: установлен низкий уровень транскриптов мРНК *FLC* у неяровизированных растений, что отличается отданных других исследователей. В процессе яровизации происходит увеличение уровня экспрессии *FLC* на 10-й и 20-й день с последующим снижением ее к 30-му дню. Особенным образом представлена динамика экспрессии генов *FLC* в процессе яровизации у S1 потомства одного раннецветущего растения, при этом экспрессия *FLC* у них изменяется согласно классическим представлениям: первоначально высокий уровень транскриптов *FLC* в процессе яровизации снижается. Предполагается, что генетические и эпигенетические механизмы, участвующие в контроле темпов зацветания, и гены, вовлеченные в этот процесс, могут различаться у растений популяций разных географических регионов.
Важную функцию в яровизационно-опосредованном эпигенетическом механизме перехода к цветению выполняют lncРНК. При участии репрессирующего комплекса PRC2 они подавляют транскрипцию *FLC* путем метилирования гистонов H3 по Lys27 с образованием репрессирующих меток H3K27me3. Также в метилировании гистонов и регуляции конформации хроматина, влияющего на экспрессии гена *FLC*, участвует метилтрансфераза гистонов CURLY LEAF. Динамика экспрессии трех lncРНК (*COOLAIR*, *COLDAIR* и *COLDWRAP*) оказалась сходной: относительно высокий уровень транскриптов у неяровизированных растений в начале холодового воздействия (20 дней) снижался, а затем повышался к 30-му дню яровизации. Анализ экспрессии гена *CLF* показал, что в процессе холодового воздействия она имеет тенденцию к постепенному усилению к 20-му и 30-му дню яровизации, а затем достоверно снижается к 40-му дню. Характер изменения транскриптов *CLF* в ходе яровизации не зависел от принадлежности растений, к какой-либо из изученных популяций Карелии. Сопоставление динамики экспрессии гена *CLF* с динамикой траснкриптов гена *FLC* позволяет предположить, что метилтрансфераза гистонов *CLF* участвует в регуляции экспрессии гена *FLC* при яровизации растений *A. thaliana* карельских популяций.
Выводы: Полученные результаты позволяют судить о своеобразии генетических процессов и эпигенетических механизмов, участвующих в регуляции транскрипционной активности генов и lncРНК, контролирующих адаптивно-значимый признак *A. thaliana* – время начала цветения – в популяциях, расположенных на северной периферии ареала вида.
Финансирование: Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (№ FMEN-2022-0009).

doi 10.18699/PlantGen-2025-95

Разработка новой методики оценки морозостойкости озимой твердой пшеницы

А.С. Зеленина[1]*, В.А. Коробкова[1], Д.О. Бизякина[1], А.А. Лаппо[1], С. Радзениеце[1], А.С. Яновский[2], Л.А. Беспалова[2], А.О. Блинков[1], А.А. Кочешкова[1], М.Г. Дивашук[1]

[1] *Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия*

[2] *Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко, Краснодар, Россия*

** zelenina_25_11_2003@mail.ru*

Цель: Разработка протокола оценки морозостойкости озимой твердой пшеницы на нескольких контрастных отрицательных температурах при использовании камер искусственного климата для ускоренной селекции (спидбридинга)

Материалы и методы: Для экспериментов использовали генотипы озимой твердой пшеницы с известным уровнем морозостойкости: Цель (высокая), Крупинка, Одари и Леукурум 21 (средняя), Кристалл 2 (ниже средней). Отрицательным контролем служил сорт яровой твердой пшеницы – Ясенка. Опыты по модификации оценки морозостойкости проводили при достижении растениями стадии начала кущения. Всего произвели три опыта. В первом эксперименте оценивали наличие и отсутствие закалки на уровень морозостойкости растений. Закалку производили в 2 этапа (первый этап – 7 суток при 0 °С и круглосуточном освещении; второй этап – трое суток при –4 °С в темноте). Растения, прошедшие закалку, и растения без закалки подвергали воздействию низких температур в течение 24 часов с момента достижения в камере заданной температуры. После промораживания растений в камере включали условия для адаптации (+4 °С, темнота, двое суток). Второй эксперимент включал в себя оценку различных вегетационных сосудов для использования их в экспериментах по оценке морозостойкости: кашпо объемом 7 л (в каждом кашпо высевали 8 рядков по 10 семян), горшки объемом 2 л (высевали 9 семян на горшок), кассеты с объемом ячеек 110 мл и с объемом ячеек 20 мл (высевали одно семян на ячейку кассеты). Все растения подвергали одинаковой закалке и промораживали при –10 °С. В третьем опыте оценивали возможность тестирования генотипов на устойчивость сразу к нескольким отрицательным температурам (–12, –14 и –17 °С). Для этого высеяли три блока с одинаковым набором генотипов, каждый из которых подвергался одинаковой закалке. Все блоки были проморожены при –12 °С, после чего один блок был вынесен из морозильной камеры в камеру с температурой +5 °С и круглосуточном отсутствии света для оттаивания и адаптации. Оставшиеся образцы подвергали повторному промораживанию при –14 °С, после чего второй блок выносили в камеру для адаптации. Растения третьего блока подвергли промораживанию при –17 °С, после чего производили аналогичную адаптацию, как для первого и второго блоков. Во всех опытах после адаптации температуру плавно поднимали до +22 °С со скоростью 1 °С/ч. На десятые сутки обрезали отмершие листья и проводили первый учет выживших растений, повторный учет производился на 21-е сутки.

Результаты: Анализ влияния закалки на морозостойкость растений, проведенный в первом эксперименте, подтвердил высокое значение закалки как подготовительного этапа злаков к отрицательным температурам. Все растения изучаемых сортов, у которых не было произведено закалки, погибли. Так, например, растения твердой пшеницы сорта Цель (повышенный уровень морозостойкости), у которых была произведена закалка, показали выживаемость на уровне 95%, без закалки выживаемость составила 0%. По результатам тестирования вегетационных сосудов с различным объемом для субстрата, было установлено, что наиболее пригодными для анализа являются прямоугольные кашпо объемом 7 л. Использование данного типа кашпо позволило экономно и рационально использовать место в камере для промораживания. Объем кашпо позволяет заделывать семена на оптимальную глубину – 3 см, что достаточным для формирования узла кущения. Также использование кашпо продемонстрировало хорошую повторяемость результатов, в то время как использование кассет отличалось неравномерностью промораживания и варьированием данных по морозостойкости. Третий эксперимент позволил разработать особый подход к анализу генотипов, позволяющий оценить их устойчивость сразу к нескольким вариантам отрицательных температур. Данный подход особенно интересен для отбора генотипов для разных климатических зон, отличающихся температурами в зимнее время. С понижением температуры и увеличением длительности воздействия, число вымерзших растений и генотипов ожидаемо росло, однако, в независимости от опускаемой температуры, сравнение результатов морозостойкости между тестируемыми сортами показало их высокую корреляцию с многолетними данными по морозостойкости. Так при –14 °С выжило 65% растений сорта Цель и 6,5% растений сорта Крупинка. При более низкой температуре количество выживших растений снизилось до 21 и 0% соответственно.

Выводы: в ходе проведенной исследовательской работы был создан новый подход к анализу генотипов сразу на нескольких отрицательных температурах (–12, –14 и –17 °С), что позволяет проводить отбор сортов для различных климатических регионов.

Финансирование: Исследование поддержано Российским научным фондом, № 24-16-00274, https://rscf.ru/project/24-16-00274/.

doi 10.18699/PlantGen-2025-96

Поиск редко встречающихся генов путем сравнительного анализа митохондриальных геномов зеленых растений, красных водорослей и фотосинтезирующих протистов

М.М. Иванов[1]*, Д.В. Диброва[1, 2]
[1] *Факультет биоинженерии и биоинформатики, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*
[2] *НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*
* *ivamikem@gmail.com*

Цель: Ключевую роль в возникновении эукариот сыграл эндосимбиоз с предком митохондрий, после которого, согласно современным представлениям, многие гены из митохондриального генома (митогенома) были постепенно либо утрачены, либо перенесены в ядро. Обратный процесс (перенос ядерных генов в митогеном) не описан и в теории должен быть сопряжен с рядом трудностей, поэтому закодированные в митогеномах гены являются интересным объектом для изучения эволюции эукариот. Крайняя степень редукции митогенома характерна для царства Metazoa, а митогеномы растений, грибов и одноклеточных организмов намного более разнообразны. Целью настоящей работы был поиск и филогеномный анализ новых и редких белок-кодирующих генов в геномах митохондрий зеленых растений, красных водорослей и фотосинтезирующих протистов.

Материалы и методы:

1. Создание выборки полных геномов митохондрий

При поиске геномов митохондрий был использован ресурс NCBI Datasets, в котором присутствует раздел Organelles, содержащий полные геномы эукариотических органелл. Из него были загружены 1049 полных геномов, относящихся к зеленым растениям (683 вида), красным водорослям и различным фотосинтезирующим протистам (366 видов).

2. Сравнение белков с профильными HMM для MitoCOGs

Ранее были описаны MitoCOGs (митоКОГи), представляющие собой кластеры ортологичных групп (КОГи), построенные на основании митохондриальных геномов, которые описывают типичные для митохондрий гены (Kannan *et al.* (2014) MitoCOGs: clusters of orthologous genes from mitochondria and implications for the evolution of eukaryotes, *BMC Evolutionary Biology* 14:237). Мы построили профильные HMM для всего набора митоКОГов, кроме 12 наиболее крупных, которые соответствуют белкам дыхательной цепи и полностью описываются прокариотическими КОГами (всего 131 новых профильных HMM). Для сравнения их с последовательностями белков, закодированными в митохондриальных геномах, был использован программный пакет HMMER v3.4 (http://hmmer.org/).

3. Визуализация данных на таксономических деревьях

Информация о таксономической принадлежности организмов, митохондрии которых мы включили в анализ, получена из базы данных NCBI Taxonomy и представлена в виде скобочной формулы дерева. Для визуализации деревьев была использована программа iTOL v7.

Результаты: Исходя из аннотаций геномов и самостоятельного транслирования последовательностей были получены последовательности 39634 белков, относящихся к рассматриваемым группам эукариот. Из них 28322 пришлись на зеленые растения и 11312 – на протистов и красные водоросли. Для 33570 белков была обнаружена находка хотя бы одной профильной HMM из набора митоКОГов, тогда как для 6064 белков не было найдено ни одной находки (порог E-value при выравнивании 1e-5). У зеленых растений оказалось 5397 белков, не соответствующих ни одному из митоКОГов, тогда как у остальных организмов – 667. Таким образом, больше всего редких белков оказалось у зеленых растений (около 19% от общего числа).

Выводы: В ходе проведенного анализа было показано, что во всех рассмотренных таксономических группах существует большое количество белков, которые не могут быть отнесены хотя бы к одному часто встречающемуся в митогеномах семейству белков, то есть потенциально являются редкими. Некоторые из них при этом могут быть похожи на другие известные белки прокариот: так, неожиданно в некоторых митохондриях были обнаружены гены белков, похожих на компоненты фотосистем I и II, рубиско и субъединиц цитохромного b_6f-комплекса. Большое количество (5850) продуктов редких митохондриальных требуют более детального анализа и сравнения с прокариотическими белками. Отдельного изучения требуют также находки тех митоКОГов, функция которых, согласно базе данных, была неизвестна.

Финансирование: Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ им. М.В. Ломоносова.

doi 10.18699/PlantGen-2025-97

CAPS-маркер для дифференциации аллелей гена *Rychc* у растений *Solanum chacoense* в коллекции ВИР

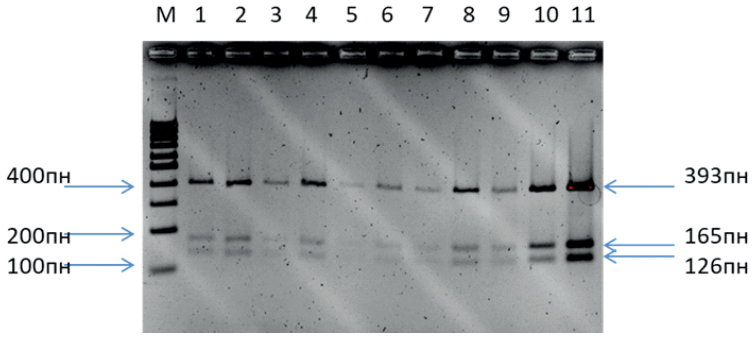
Е.А. Иванова*, Н.В. Алпатьева, Е.В. Рогозина
Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург, Россия
** zavarihinakat@gmail.com*

Введение: Вирус Y картофеля является широко распространенным патогеном, который причиняет высокий экономический ущерб картофелеводству. Известны три эффективных гена, обеспечивающих устойчивость картофеля к PVY: Ry_{sto} от *Solanum stoloniferum* Schltdl. et Bouché, Ry_{adg} от *Solanum tuberosum* L. subsp. *andigena* Hawkes и Ry_{chc} от *Solanum chacoense* Bitt. Для успешной интрогрессии генов родственных видов в культурный картофель необходимо знание их аллельных вариантов у многообразия коллекционных образцов, сохраняемых *ex situ*. Впервые ген Ry_{chc} введен в японский сорт картофеля 'Konafubuki' от удвоенного гаплоида *S. chacoense* «w84» (Asama et al., 1982). Ген картирован на длинном плече хромосомы 9 (Takeuchi et al., 2008). Позже ген Ry_{chc} клонировали из другого источника – *S. chacoense* образца 40-3 (Li et al., 2022). Между двумя последовательностями Ry_{chc} обнаружены нуклеотидные замены и вставки/делеции, приводящие к аминокислотным заменам. В результате рассмотрения этих двух вариантов Ry_{chc} как эффективных аллелей одного гена со схожими функциями, были предложены их новые обозначения: Ry_{chc}*-1* для Ry_{chc} от 'Konafubuki' и Ry_{chc}*-2* для *S. chacoense* 40-3, и разработан KASP-маркер (Ry_3331) для дифференциации аллелей, на основе T/C замены в позиции 3331 последовательности гена (Asano et al., 2024).

Цель работы: разработать не требующий специального оборудования CAPS-маркер, позволяющий дифференцировать эффективные аллели гена *Rychc*.

Материалы и методы: ДНК выделяли индивидуально из одного-шести растений каждого образца CTAB буфером, pH 8,0 (Doyle, Doyle, 1990). С помощью специфических праймеров MG64-17-1, разработанных для идентификации гена Ry_{chc} (Li et al., 2022) у 11 растений четырех образцов *S. chacoense* из коллекции ВИР: к-2732 (6 растений), к-2861 (2 растения), к-7394 (1 растение), к-19769 (2 растения), устойчивых к YBK по результатам полевых опытов 2022 и 2023 гг., амплифицировали фрагменты четвертого интрона гена Ry_{chc}, содержащего C/T замену в позиции 3331, дифференцирующую аллели Ry_{chc}*-1* и Ry_{chc}*-2*.

Результаты: У всех образцов получены ампликоны длиной около 690 пн. Для разработки CAPS-маркера использована рестриктаза Tru9I, сайт узнавания которой (TTAA) встречается у варианта Ry_{chc}*-1* (GenBank: LC726345.1) два раза, а у Ry_{chc}*-2* (GenBank: ON553756.1) – три. В результате электрофоретический профиль первого аллеля включал 3 фрагмента длиной 393, 297 и 7 пн, а второго аллеля – 4 фрагмента: 393, 165, 126 и 7 пн (рисунок). Один из сайтов рестрикции включает C/T замену позиции 3331.



Электрофореграмма продуктов рестрикции фрагмента гена Ry_{chc} рестриктазой Tru9I у образцов *S. chacoense* из коллекции ВИР. М – маркер молекулярного веса, образцы 1-6 (к-2732), 7-8 (к-2861), 9 (к-7394), 10-11(к-19769)

Выводы: Установлено, что все изученные растения *S. chacoense* являются носителями аллеля Ry_{chc}*-2*. Разработанный нами маркер $CAPS_{Rychc}$ более доступен по сравнению с KASP-маркером и является не менее эффективным инструментом для поиска и дифференциации двух эффективных аллелей гена Ry_{chc} в коллекции ВИР и отбора ценных генотипов в популяциях.

Финансирование: Исследование выполнено в соответствии с планом НИР, номер темы FGEM-2025-0005.

doi 10.18699/PlantGen-2025-98

Вирусная доставка белков для редактирований растений *Brassica napus* L.

А.С. Ивахненко[1]*, М. Мардини[1], В.В. Уткина[1], И.В. Киров[1, 2]
[1] *Московский физико-технический институт (Национально-исследовательский университет), Долгопрудный, Россия*
[2] *Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия*
* *ivakhnenko.as@phystech.edu*

Цель: Оптимизация условий вирус-опосредованного редактирования генома *Brassica napus* L. с использованием вектора TRV для доставки TnpB редакторов.
Материалы и методы: Для временной экспрессии белков TnpB редакторов использовали рекомбинантный вектор TRV, состоящий из двух РНК – RNA1 и RNA2. Были разработаны направляющие РНК (gRNA), нацеленные на консервативные участки гена *PDS* у *Brassica napus*. Полученные конструкции были трансформированы в *Agrobacterium tumefaciens* (штамм GV3101) и были использованы для заражения растений рапса методом агроинфильтрации. Влияние возраста растений (6 и 12 дней после всходов) и концентрации бактериальной суспензии (OD600 = 0,8; 1,0) на эффективность вирусного заражения оценивали с помощью ОТ-ПЦР. Визуальный анализ проводили по наличию фенотипических изменений, характерных для инактивации *PDS*. Для оценки эффективности редактирования образцы растений отбирали на разных этапах эксперимента.
Результаты: Для оценки эффективности системы вирусной доставки белков-редакторов были подобраны гидовые РНК для редактирования гена *PDS* (phytoene desaturase), широко используемого в качестве визуального маркера благодаря характерному фенотипу обесцвечивания тканей. Направляющие РНК разрабатывались с учетом особенностей сайта мишени и совместимости с различными TnpB геномными редакторами. Исследование влияния возраста растений на эффективность TRV-заражения показало, что инфицирование 6-дневных сеянцев приводило к низкому уровню вирусной нагрузки, тогда как у 12-дневных растений наблюдалось более активное распространение вируса. Согласно результатам ОТ-ПЦР, при изучении влияния плотности агробактериальной суспензии на успешность инфицирования было установлено, что OD600 = 1,0 является наиболее оптимальной. При OD600 = 0,8 инфекция распространялась менее эффективно. Полученный фенотип инфицированных растений указывает на появление признаков, характерных для мутаций в гене *PDS*. Эффективность геномного редактирования была оценена на соматических клетках рапса.
Выводы: Предварительные результаты показывают, что эффективность вирус-опосредованного редактирования генома *B. napus* зависит от возраста растений и условий агроинфильтрации. Трудности и преимущества вирусной доставки геномных редакторов для редактирования генома рапса будет обсуждаться.
Финансирование: Исследование выполнено при поддержке программы «Приоритет 2030» (МФТИ, Физтех).

doi 10.18699/PlantGen-2025-99

Наночастицы фосфата кальция как перспективные носители для доставки нуклеиновых кислот в растительные клетки

И.Ю. Ильина[1]*, Е.В. Попова[1, 2], В.Е. Тихомирова[1, 2], А.И. Ахметова[1, 3], О.А. Кост[1, 2]
[1] *Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва, Россия*
[2] *Химический факультет, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*
[3] *Физический факультет, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*
* *irinailina.bio@gmail.com*

Цель: Сравнение двух типов наночастиц фосфата кальция (CaP-частиц) как потенциальных наноносителей биологически активных макромолекул: ДНК и двуцепочечной РНК (дцРНК).
Материалы и методы: Частицы CaP были получены, как описано ранее (Popova et al., 2023). Сначала была приготовлена смесь растворов фосфата калия и цитрата натрия, затем одновременно с началом ультразвуковой обработки добавляли раствор хлорида кальция. Варьировались концентрация цитрата натрия, значение pH раствора фосфата калия и температура ультразвуковой обработки. Получены характеристики CaP, такие как средний гидродинамический диаметр, индекс полидисперсности (PDI) и поверхностный заряд (ζ-потенциал). Морфологию и форму CaP изучали с помощью атомно-силовой микроскопии (АСМ) и сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). Сорбцию ДНК и РНК проводили на CaP в присутствии Ca^{2+} или Mg^{2+}. Эффективность сорбции и десорбции оценивали с помощью спектрофотометра, измеряя оптическое поглощение надосадочной жидкости суспензии CaP и ДНК. Также полученные комплексы CaP-дцРНК анализировали с помощью электрофоретического анализа сдвига подвижности (EMSA).
Результаты: Выбраны два метода синтеза CaP: с охлаждением и без охлаждения при постоянной ультразвуковой обработке. Метод с охлаждением требовал более высоких концентраций стабилизирующего агента, цитрата натрия, и более низкого значения pH при синтезе. Показано, что оба типа CaP- частиц существуют в виде стабильных суспензий в водных растворах и имеют схожий фазовый состав, средний гидродинамический диаметр около 80 нм и ζ-потенциал 23–25 мВ. Однако синтез CaP-частиц при более низкой температуре привел к получению меньшего количества частиц с более широким распределением по размерам. Кроме того, анализ методом просвечивающей электронной микроскопии показал, что эти CaP-частицы представляли собой агломераты более мелких наночастиц размером 10–20 нм. Тогда как CaP-частицы, полученные без охлаждения, имели округлую форму и размер в диапазоне 20–150 нм. CaP-частицы оказались довольно стабильными в виде суспензий в воде и не меняли размер и ζ-потенциал при хранении в течение месяца при температуре 4 °C. Стабильность суспензий CaP в воде позволяет использовать такие суспензии на практике в сельском хозяйстве. Обнаружено, что ДНК способна эффективно связываться с CaP путем сорбции, особенно в присутствии дополнительных ионов металлов. Взаимодействие нуклеиновых кислот и CaPs происходит за счет электростатического притяжения между Ca^{2+} и фосфатными группами ДНК или РНК, дополнительные ионы, по-видимому, действуют как мостики между нуклеиновой кислотой и поверхностью носителя, имеющего отрицательный заряд. Таким образом, была изучена сорбция ДНК на CaP-частицы, в присутствии дополнительных концентраций Ca^{2+} и Mg^{2+}. Оказалось, что при низких концентрациях ионов, менее 5 мМ, эффективность сорбции ДНК остается низкой. В целом, разница между влиянием Ca^{2+} и Mg^{2+} на сорбцию ДНК на CaP-частицы статистически незначима. Высвобождение ДНК не наблюдалось ни в дистиллированной воде, ни в солевом растворе в течение 24 часов, но использование цитратно-фосфатного буфера позволило полностью высвободить ДНК с CaP-частиц. Высвобождение ДНК из CaP-частиц, полученных с/без охлаждения, происходило аналогичным образом.
Сорбцию двуцепочечной РНК на CaP проводили так же, как и в случае с ДНК, в присутствии Ca^{2+}. Также было показано, что РНК адсорбируется на CaP в присутствии Ca^{2+}, но только на те частицы, которые были получены без охлаждения, что требовало меньше цитрата при синтезе. Неспособность CaP, полученных с помощью охлаждения, связываться с дцРНК была подтверждена с помощью АСМ.
Выводы: CaP-частицы в присутствии дополнительных ионов металлов могут быть использованы как платформы для связывания нуклеиновых кислот. Для включения дцРНК предпочтителен метод синтеза без охлаждения. Суспензии наночастиц характеризуются постепенным высвобождением веществ, что делает их перспективными для применения в качестве носителей различных активных веществ в сельском хозяйстве.
Финансирование: Исследование поддержано Российским научным фондом, грант № 23-74-30003.

doi 10.18699/PlantGen-2025-100

Генетическая структура популяций Рябчика шахматного *Fritillaria meleagris* в Средней России

С.С. Исаев, В.А. Скобеева*, Т.В. Сизова, Д.А. Одинцова, М.И. Антипин, А.А. Криницына
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия
** skobei-khanum@yandex.ru*

Рябчик шахматный *Fritillaria meleagris* является широко распространенным в Евразии видом, часто выращивается как декоративная культура. Многие популяции рябчика шахматного, встречающиеся в естественных местообитаниях, могут быть следствием как непреднамеренной интродукции культурных форм, так и остатками ранее существовавшей большой популяции, пострадавшей от последнего оледенения, так и результатом распространения популяций, сохранявшихся в ледниковое время в рефугиумах. В связи с этим возникает вопрос относительно популяций на северной границе ареала, являются ли они «беглецами из культуры» или остаточными популяциями, сохранившимися с ледникового периода.

Межгенные спейсеры в генах рибосомных РНК (*ITS1* и *ITS2*) широко используются для видовой идентификации растений, поскольку обладают достаточной вариабельностью (Zhao et al., 2018).

Цель: Оценить генетическое разнообразие популяций рябчика шахматного, встречающегося в Средней России, как культурных форм, так и произрастающих в естественных условиях.

Материалы и методы: Для изучения структуры межгенного спейсера генов рРНК ITS2 были собраны образцы растений из 12 популяций дикорастущего рябчика шахматного (собрали в дикой природе) и из 11 групп растений, имеющих антропогенное происхождение (Ботанические сады или высаженные на личных участках). Анализируемые популяции дикорастущего рябчика произрастали вдоль северной границы ареала вида, в Московской и Владимирской областях. Из каждой популяции (группы) были исследованы по два растения. Выделение ДНК проводилось по методу CTAB, амплификация межгенного спейсера *ITS2* проводилась по следующему протоколу: 1 – 95 °C 10 минут, 2 – 30 циклов – 95 °C – 10 секунд, 55 °C – 30 секунд, 72 °C – 40 секунд, 3 – 72 °C – 5 минут. Анализ продуктов амплификации проводили при помощи электрофореза в TAE-1,7% агарозном геле. Секвенирование по Сэнгеру продуктов амплификации после очистки проводили в компании Евроген (Россия).

Результаты: Анализ полиморфизмов на участке ITS2 показал разделение этих популяций на две группы. Первая группа объединяла все дикорастущие популяции, вторая – все, полученные в результате высадки коммерческого материала. Причем выявленные варианты однонуклеотидных замен у представителей этих двух групп не перекрывались. В первой группе у представителей 9 дикорастущих популяций, произрастающих во Владимирской (Чармус), Московской (Фосфоритный, Пожога) и Тульской областях были выявлены две мононуклеотидных замены: A/T153 и C/T168, тогда как у трех (две популяции из Московской области, Протвино и Ступино, и одна из Тульской) – только одна – C/T168.

Во второй группе были выявлены другие варианты однонуклеотидных замен. У растений, которые культивируются в ботаническом саду МГУ им. М.В. Ломоносова, были обнаружены различные варианты. На участке луковичных и в Аптекарском огороде (группа растений культивируется более 25 лет) у некоторых представителей ITS2 оказался идентичен варианту, представленному в базе данных NCBI (AY616730.1). Кроме того, растения из БС МГУ, произрастающие на разных участках, имеют полиморфизм C/T100 или C/G100. Вариант C/T100 также был выявлен у растений, высаженных в поселке Новоспасское (Московская обл.). У растений из самоподдерживающейся группы растений, высаженных из приобретенного растительного материала в 2009 году в другом районе поселка Новоспасское, было выявлено наличие другого полиморфизма – T/C80. В дополнении к ним в ITS2 у некоторых образцов были выявлены индивидуальные полиморфизмы G/A21, C/T127, C/T165, C/T170, G/C197, C/T206, C/T216, которые рандомно встречались у различных растений (один полиморфизм – одно растение) всей изученной выборки. Полученные результаты показывают, что растения из дикорастущих популяций отличаются от тех, которые культивируются и поставляются через розничные сети, что свидетельствует о природном происхождении дикорастущих популяций. Наличие полиморфных вариантов в последовательностях ITS2 были показаны и для других видов рода *Fritillaria* (Day et al., 2014). Такая картина может возникать в случае гибридного происхождения растений, полиплоидизации или неполном прохождении концертной эволюции. Для проанализированных растений выявить вторую родительскую форму при имеющихся данных в базе данных NCBI не удалось.

Финансирование: Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ им. М.В. Ломоносова.

doi 10.18699/PlantGen-2025-101

Исследование экспрессии генов тауматиноподобных белков *Filipendula ulmaria* в ответ на заражение *Bipolaris sorokiniana* с использованием глубокого секвенирования транскриптомов

Е.А. Истомина*, Т.И. Одинцова
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия
** mer06@yandex.ru*

Для защиты от биотического стресса растения в ходе эволюции выработали множественные защитные механизмы, одним из которых является синтез белков, связанных с патогенезом – PR-белков (Pathogenesis-Related proteins). По гомологии структуры и сходству выполняемых функций выделяют 18 семейств PR-белков. Одно из них – PR5, включает тауматиноподобные белки (ТПБ). ТПБ представляют собой эволюционно консервативное семейство белков, которые участвуют в защите растений от разных видов стресса. ТПБ – это низкомолекулярные белки, устойчивые к действию протеаз и денатурации, вызванной изменением pH или температуры, что связано с наличием 8 дисульфидных связей в их молекулах. ТПБ обладают противогрибковыми свойствами, связываясь с β-1,3-глюканами гриба, они нарушают синтез клеточной стенки.

Filipendula ulmaria – таволга вязолистная (семейство Розовые), является ценным лекарственным растением, которое широко используется в нетрадиционной медицине благодаря своим противовоспалительным, обезболивающим, ранозаживляющим и противомикробным свойствам. Детерминанты противомикробных свойств белковой природы у таволги не изучены.

Цель настоящей работы состояла в обнаружении генов ТПБ у таволги и исследовании их экспрессии в ответ на заражение грибом *Bipolaris sorokiniana* через 24 и 48 ч после заражения с использованием глубокого секвенирования транскриптомов.

Методы: Был проведен транскриптомный анализ растений таволги после заражения *B. sorokiniana*. Для проведения эксперимента использовали 4 образца растительной ткани в двух технических повторностях: 2 зараженных *B. sorokiniana* и 2 контрольных образца через 24 и 48 ч после инокуляции патогеном или водой соответственно. Секвенирование транскриптомов проводили на приборе Illumina NextSeq 500. Сборка транскриптомов осуществлялась с помощью программы rnaSpades v3.15.4. Программу TransDecoder v5.5.0. использовали для определения открытых рамок считывания в контигах. Для выявления тауматиноподобных белков в полученных транскриптомных данных использовали в качестве модели консервативные мотивы ТПБ из базы данных NCBI CDD. Все обнаруженные последовательности были проверены на наличие консервативных мотивов с помощью программы InterProScan. Изоэлектрические точки и молекулярные массы определяли с помощью программы ProtParam, область сигнального пептида – с помощью программы SignalP 4.1. Для установления субклеточной локализации использовали программу Cell-PLoc 2.0**.**

Результаты: В результате транскриптомного анализа *F. ulmaria* после заражения *B. sorokiniana* через 24 и 48 ч после заражения было выявлено 12 генов, кодирующих тауматиноподобные белки. Все обнаруженные белки имели гомологию с ТПБ семейства Розовые, процент гомологии составлял от 75 до 95%. Длина обнаруженных ТПБ составляла от 219 до 317 ак; молекулярная масса варьировала от 23 до 35 кДа; значения pI белков составлял от 4,3 до 8,4. У 11 ТПБ предсказано наличие сигнальной последовательности, длина которой была от 19 до 28 ак. Было установлено, что 7 обнаруженных ТПБ локализуются в цитоплазме, а 5 – в вакуолях. При изучении дифференциальной экспрессии генов ТПБ в ответ на заражение растений таволги *B. sorokiniana* было обнаружено, что у 6 генов из 12 экспрессия достоверно менялась в ответ на заражение ($|\log2FoldChange|>1$, p <0,05). Через 24 ч после обработки патогеном у двух генов экспрессия падала ($-1,44<\log2FoldChange<-1,12$), а у одного гена возрастала ($\log2FoldChange = 1,45$) по сравнению с контролем. Через 48 ч после обработки растений патогеном экспрессия трех генов возрастала ($1,0 <\log2FoldChange<1,6$).

Выводы: В транскриптомах таволги в ответ на заражение грибом *B. sorokiniana* было выявлено 12 генов тауматиноподобных белков. Экспрессия четырех генов возрастала в ответ на инфекцию, у двух генов экспрессия падала, экспрессия остальных генов не менялась в ответ на заражение. Полученные результаты свидетельствуют о сложной регуляции экспрессии генов ТПБ у таволги и их различной роли в инфекционном процессе и защите от грибного патогена *B. sorokiniana.*

doi 10.18699/PlantGen-2025-102

Структурные и эволюционные особенности активных ретротранспозонов подсолнечника

М.Ю. Казанцев[1, 2]*, П.Ю. Меркулов[1, 2], К.Н. Тюрин[1, 2], Я.Н. Демурин[3], И.В. Киров[1, 2]
[1] *Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный, Россия*
[2] *ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», Москва, Россия*
[3] *Всероссийский научно-исследовательский институт масличных культур им. В.С. Пустовойта, Краснодар, Россия*
* *miykazantsev@gmail.com*

Цель: Изучение активных LTR-ретротранспозонов подсолнечника *Helianthus annuus* L. и их роли в изменчивости структуры генома.
Материалы и методы: Мы провели активацию транспозонов в геноме подсолнечника, при помощи комбинации эпигенетического (зебуларин и α-аманитин) и теплового стресса. Выделили кольцевые ДНК, которые были отсеквенированы с использованием технологии Oxford Nanopore (ONT Mobilome-Seq). Полученные данные, а также результаты секвенирования 12 сортов подсолнечников, находящиеся в свободном доступе, послужили для проведения филогенетического анализа, предсказания структуры белков (AlphaFold 3) и изучения хромосомного распределения ретротранспозонов в геноме *Helianthus annuus* L. Особое внимание было уделено внехромосомным кольцевым ДНК (eccDNA), а также дополнительным открытым рамкам считывания (aORFs), кодирующим белки с неизвестными функциями.
Результаты: Благодаря данным секвенирования eccDNA мы обнаружили и валидировали, при помощи ПЦР, 28 активных RTEs, принадлежащих к различным филогенетическим группам, включая три подгруппы клады Tekay. В результате анализа инсерций, мы обнаружили, что RTEs группы Tekay 2 демонстрируют уникальное распределение инсерций по хромосомам, преимущественно в генных регионах. В то же время инсерции групп Tekay 1 и Tekay 3 локализованы в перицентромерных областях. Нам удалось выявить дополнительные рамки считывания (aORFs) для активных транспозонов Tekay, кодирующие белки с транспозазными и трансмембранными доменами, а также с сигналами ядерной локализации.
Предсказанная 3D-структура белка, кодируемого aORF Tekay гомологична белкам Tekay риса, кукурузы и сорго. Также было показано сходство с доменами, связывающимися с двуцепочечной РНК (DRBM), что предполагает их участие в модуляции РНК-сайленсинга.
Выводы: В результате работы мы получили новые данные об активных мобильных элементах подсолнечника, их разнообразии, распределении инсерций в геноме, а также о структурных особенностях белков, что поможет лучше понять процессы эволюции геномов растений и разработки стратегий управления их изменчивостью.
Результаты исследования расширяют понимание разнообразия и функций RTEs у растений и открывают новые направления для изучения их биологической роли.
Активные RTEs подсолнечника демонстрируют высокую структурную и филогенетическую гетерогенность.
Белки, кодируемые aORFs, могут играть важную роль в мобильности RTEs и взаимодействии с клеточными механизмами.
Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ № 22-64-00076, https://rscf.ru/project/22-64-00076/.

doi 10.18699/PlantGen-2025-103

Участие гена SaCAX в устойчивости растений *Sinapis alba* L. к раздельному и одновременному действию избытка цинка и низкой температуры

Н.М. Казнина*, Н.С. Репкина
Институт биологии – обособленное подразделение ФИЦ «Карельский научный центр Российской академии наук», Петрозаводск, Россия
** kaznina@krc.karelia.ru*

Цель: изучить экспрессию генаCa^{2+}/H^{+}-обменника (*SaCAX*) в листьях горчицы белой при избытке цинка в среде роста, кратковременном понижении температуры или одновременном действии этих стрессоров.
Материалы и методы: Семена горчицы белой (*Brassica alba* L.) сорта Радуга проращивали на дистиллированной воде. После чего проростки переносили в сосуды с питательным раствором Хогланда-Арнона, содержащим 5 (оптимум) или 1000 мкМ (избыток) цинка. Растения выращивали под светоустановкой при температуре 22 ºС, относительной влажности воздуха 60–70%, ФАР 200 мкмоль/(м^2·с), 14-часовом фотопериоде. Спустя 7 суток (исходный уровень) часть растений обоих вариантов опыта оставляли при температуре 22 °С (варианты Zn5 + 22 °С и Zn1000 + 22 °С), а другую – переносили в холодовую камеру с температурой 4 °С (варианты Zn5 + 4 °С и Zn1000 + 4 °С). В исходной точке и по истечении 3 и 7 сут в листьях растений измеряли количество транскриптов гена *SaCAX* методом РТ-ПЦР. Об устойчивости растений к раздельному или совместному действию стресс-факторов судили по показателям роста побега (высота побега, его сухая биомасса).
Результаты: Обнаружено, что в оптимальных условиях роста (Zn5 + 22 °С) количество транскриптов гена *SaCAX* было практически неизменным на протяжении всего опыта. При избытке цинка (исходный уровень) количество матриц этого гена оказалось в 3 раза выше, чем при его оптимальном содержании, однако в дальнейшем при 22 °С (Zn1000 + 22 °С) оно постепенно снижалось. При действии низкой температуры в течение 3 сут количество транскриптов гена *SaCAX* в варианте опыта Zn5 + 4 °С возрастало (в 2.8 раза по сравнению с исходным уровнем), но к 7-м суткам уменьшалось до исходного значения. В варианте с одновременным действием стресс-факторов (Zn1000+4 °С) количество транскриптов этого гена сохранялось высоким на протяжении всего опыта.
Выявлено также, что все изученные типы воздействия отрицательно сказались на росте растений. В частности, у них уменьшалась (по сравнению с оптимальными условиями роста) высота побега и его сухая биомасса. Однако в вариантах с раздельным действием цинка и низкой температуры к завершению опыта растения возобновили рост, тогда как в варианте с их одновременным воздействием рост полностью останавливался.
Выводы: Таким образом, при раздельном действии избытка цинка или низкой температуры у горчицы белой в листьях усиливается экспрессия гена *SaCAX*, что направлено на снижение содержания кальция в цитозоле клетки. При дальнейшем росте растений в этих условиях уровень экспрессии гена постепенно снижается, свидетельствуя о восстановлении концентрации этого элемента и, как следствие, уменьшении стрессовой нагрузки. При этом возобновляется рост растений. При одновременном воздействии стресс-факторов количество транскриптов гена остается высоким на протяжении всего опыта, что, вероятно, связано с сохранением высокого уровня кальция в цитозоле. В этом случае наблюдаемая в опыте остановка роста растений может быть связана с развитием окислительного стресса, вызванного избыточным количеством ионов кальция. Полученные данные позволяют предполагать участие гена *SaCAX* в устойчивости растений горчицы белой не только к избытку цинка, но и к низкой температуре, а также к одновременному воздействию изученных стресс-факторов.
Финансирование: Исследование поддержано финансированием на ГЗ ИБ КарНЦ РАН № FMEN-2022-0004.

doi 10.18699/PlantGen-2025-104

Кариогеномика шалфея карабахского *Salvia karabachensis* Pobed.

Ю.В. Кальнюк*, А.Р. Семенов, О.Ю. Юркевич, А.В. Амосова, О.В. Муравенко
Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, Россия
** julia99kalniuk99@yandex.ru*

Цель: Род Шалфей (*Salvia* L.) – крупнейший род семейства Яснотковые (Lamiaceae), включающий в себя около тысячи видов травянистых растений и кустарников. Многие представители этого рода растений характеризуются высоким содержанием биологически активных веществ, таких как терпены и терпеноиды, фенольные кислоты, флавоноиды. Шалфеи широко используются в качестве лекарственных растений, а также в пищевой, парфюмерной, косметической и других отраслях промышленности. Среди наиболее известных видов – шалфей лекарственный (*Salvia officinalis* L.) из подрода *Salvia* и шалфей мускатный (*Salvia sclarea* L.) из подрода *Sclarea*. Эндемик Кавказского региона, лекарственный вид шалфей карабахский (*Salvia karabachensis* Pobed.), входит в одну секцию *Aethiopis* с *S. sclarea* подрода *Sclarea*. Геном этого вида практически не изучен и данные о хромосомном числе этого вида неоднозначны. Сравнительное изучение геномов шалфеев карабахского и мускатного с использованием современных методов цитогеномного анализа стало целью данного исследования.

Материалы и методы: Семена для исследования *S. karabachensis* получены из коллекции НИИ СХ Крыма. Семена проращивали в чашках Петри на влажной фильтровальной бумаге в течение 3–5 суток при комнатной температуре. Корневую меристему использовали для приготовления давленых хромосомных препаратов. Проростки подращивали в термостате при 15 °C и листья использовали для выделения ДНК. Геномную ДНК выделяли из молодых листьев растений с использованием CTAB метода. Геномная ДНК была секвенирована с низким числом покрытий на платформе BGISeq. в соответствии с протоколом NGS. Далее был проведен биоинформатический анализ массивов геномных данных *S. karabachensis* с применением программ RepeatExplorer и TAREAN. Последовательности выявленных сателлитных ДНК (сатДНК) были исследованы на гомологию с сатДНК *S. sclarea*, выявленными ранее, с использованием BLAST. Методом флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) проведено картирование 5S рДНК, 45S рДНК и ранее выявленных сатДНК *S. sclarea* (SS1, SS8, SS123) на хромосомах шалфея карабахского.

Результаты: Сравнительный анализ репитомов шалфея карабахского и шалфея мускатного показал значительное сходство. У этих видов наиболее распространенными повторяющимися последовательностями ДНК являются ретротранспозоны, процентное содержание в геноме которых составляет 27,82% у шалфея карабахского и 31,33% у шалфея мускатного. При этом у шалфея карабахского преобладают повторы *Ty3-Gypsy* (19,13%), а у шалфея мускатного – *Ty1-Copia* (16,28%). Содержание ДНК-транспозонов у *S. sclarea* невелико (0,45% генома), у *S. karabachensis* это число отличается в несколько раз (1,95%). В результате анализа репитома шалфея карабахского выявлены 5 высокодостоверных сатДНК и 4 низкодостоверных сатДНК. BLAST анализ на гомологию сателлитных ДНК, содержащихся в геномах шалфея карабахского и шалфея мускатного, обнаружил гомологию последовательностей пяти сатДНК шалфея карабахского (SK7, SK9, SK19, SK61, SK101) с тремя сатДНК шалфея мускатного (SS1, SS8, SS123). В кариотипе *S. karabachensis* обнаружено 9 пар хромосом (2x = 18), в отличие от ранее опубликованных данных о 10 парах хромосом (2n = 20) в кариотипе этого вида. Следует отметить, что в кариотипе у родственного вида шалфея мускатного на две пары хромосом больше (2n = 22), чем у изученного образца шалфея карабахского. FISH-картирование рДНК на хромосомах шалфея карабахского показало локализацию 45S рДНК на коротком плече пары спутничных хромосом, а также ко-локализацию 45S рДНК с 5S рДНК на другой паре хромосом. На хромосомах шалфея мускатного выявлено сходное расположение 45S рДНК на коротком плече пары спутничных хромосом, но 5S рДНК была локализована на двух парах хромосом отдельно от 45S рДНК. Сателлитные ДНК повторы *S. sclarea* на хромосомах шалфея карабахского распределялись на хромосомах *S. karabachensis* в дистальных районах почти всех хромосом, аналогично тому, как они распределены на хромосомах *S. sclarea*.

Выводы: Изученный образец *S. karabachensis* является диплоидом с числом хромосом 2n = 18. Обнаружено как сходство, так и различия в распределении 45S и 5S рДНК на хромосомах *S. karabachensis* и *S. sclarea*, но локализация гомологичных сателлитных ДНК на хромосомах обоих видов аналогична. Полученные данные свидетельствуют о наличии у *S. karabachensis* и *S. sclarea*, по крайней мере, одного общего предкового вида.

Финансирование: Работа поддержана Программой фундаментальных научных исследований в Российской Федерации (2021–2030 годы) (тема 124031500018-1).

doi 10.18699/PlantGen-2025-105

Создание транспозон-ассоциированной репортерной системы для изучения мобилома растений

Е.Д. Камараули[1]*, И.В. Киров[1, 2]
[1] *Московский физико-технический институт (МФТИ), Долгопрудный, Россия*
[2] *ФГБНУ ВНИИСБ, Москва, Россия*
* *kamarauli.ed@phystech.edu*

Цель: Создание репортерной системы на основе ретротранспозона *Onsen* для растения *Arabidopsis thaliana*.
Материалы и методы: Растения *A. thaliana* Col-0 (дикий тип) выращивались в почве в течение месяца при температуре 22 °C и условиях длинного дня (16 ч света/8 ч темноты). Выделение геномной ДНК проводилось из 200 нг молодых листьев методом CTAB. Амплификация последовательности *Onsen* проводилась с геномной ДНК с помощью набора БиоМастер LR HS-ПЦР (2х) (Биолабмикс, Россия). Клонирование *Onsen* производилось в экспрессионный вектор pGD121 с помощью технологии TEDA (T5 exonuclease DNA assembly). Полученные плазмиды были трансформированы в Агробактерии (*Agrobacterium tumefaciens* штамм GV3101). Проверка последовательности каждой полученной плазмиды проводилась нанопоровым секвенированием.
Результаты: Создание репортерной системы включает в себя разработку и клонирование генетической конструкции, содержащей последовательность ретротранспозона *Onsen*. Для создания генетической конструкции последовательность самой активной копии ретротранспозона (AT1TE12295) была разделена на 2 фрагмента, которые были амплифицированы с геномной ДНК *A. thaliana*. Фрагмент 1 содержал последовательность 5'LTR и открытую рамку считывания, фрагмент 2 содержал 3'LTR, а также участок клонирования, содержащий несколько сайтов рестрикции для внедрения различных репортерных генов в последовательность ретротранспозона в дальнейшем. Помимо этого, оба фрагмента имели 15–20 нуклеотидных гомологичных участков, необходимые для клонирования в плазмидный вектор. В данной работе использован экспрессионный вектор pGD121, из которого предварительно был вырезан 35S промотор и Tnos терминатор, в виду того, что ретротранспозон *Onsen* содержит собственные теплочувствительные элементы, реагирующие на повышение температуры и запускающие процесс транскрипции в следствие воздействия высоких температур на растение. Сборка линеаризованного вектора и обоих амплифицированных фрагментов *Onsen* проводилась с помощью метода TEDA – типа клонирования, при котором происходит сборка ДНК фрагментов по гомологичным фрагментам – такой способ позволяет клонировать несколько фрагментов в одной пробирке. Далее в полученную конструкцию pGD121-ONSEN была заклонирована последовательность интрона, входящего в ген *nrpb1* и способного вырезаться во время альтернативного сплайсинга, что сигнализирует о начале жизненного цикла ретротранспозона и, соответственно, транспозиции. Последовательность полученных плазмид была подтверждена с помощью нанопорового секвенирования и трансформирована в Агробактерии методом электропорации.
Выводы: Полученная генетическая конструкция на основе ретротранспозона *Onsen* является начальным этапом в создании репортерной системы, которая позволит лучше понять биологию мобильных элементов: процессы их активации, транспозиции и наследования. В дальнейшем в базовую конструкцию будут заклонированы различные репортерные гены, которые позволят легко визуализировать жизненный цикл мобильных элементов.
Финансирование: Исследование выполнено при поддержке программы «Приоритет 2030» (МФТИ, Физтех).

doi 10.18699/PlantGen-2025-106

Ксилоглюкан эндотрансглюкозилаза/гидролаза 19 *Nicotiana benthamiana* влияет на межклеточный транспорт макромолекул

К.А. Камарова[1]*, Н.М. Ершова[1], Е.В. Шешукова[1], А.А. Антимонова[1, 2], Т.В. Комарова[1, 2]
[1] *Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия*
[2] *НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ, Москва, Россия*
* *kamila.kamarova@yandex.ru*
doi 10.18699/PlantGen2025-

Цель: Влияние как биотических, так и абиотических факторов окружающей среды запускает в растениях биологические механизмы, способствующие координированному ответу растений на стресс. Важнейшую роль в таком ответе играет межклеточный транспорт. Клетки растений соединены между собой плазмодесмами (ПД), каналами, с помощью которых осуществляется транспорт как низкомолекулярных веществ, так и макромолекул. ПД имеют ограниченную и строго регулируемую пропускную способность, при этом апертура ПД может изменяться в результате прямого или опосредованного воздействия клеточных белков, а также изменения уровня экспрессии целого ряда генов. Целью данной работы было определение роли ксилоглюкан эндотрансглюкозилазы/гидролазы 19 *Nicotiana benthamiana* (NbXTH19) в регуляции межклеточного транспорта макромолекул.

Материалы и методы: Оценку межклеточного транспорта макромолекул проводили при использовании конструкции 35S-2xGFP, кодирующей двукратную молекулу зеленого флуоресцентного белка, которая в норме не способна перемещаться из клетки в клетку. Для наблюдения за распространением BTM использовали вирусный вектор BTM:GFP, в котором ген белка оболочки был заменен на ген *GFP*. Доставку в клетки листьев генетического материала осуществляли методом инфильтрации трансформированными штаммами *Agrobacterium tumefaciens*. Ранее были получены генноинженерные конструкции 35S-NbXTH19 и 35S-NbXTH19mut для суперэкспрессии гена *NbXTH19* и его варианта с мутацией, *NbXTH19mut* (Шешукова и др., 2024). Обе конструкции содержали последовательность конститутивного промотора 35S РНК вируса мозаики цветной капусты.

Результаты: Белки класса ксилоглюкан эндотрансглюкозилаз/гидролаз принимают активное участие в ответах на стрессовые воздействия, следовательно, могут быть вовлечены в регуляцию межклеточного транспорта. Для проверки этого предположения была проведена оценка эффективности распространения из клетки в клетку репортерной молекулы двукратного GFP (2xGFP) на фоне суперэкспрессии гена, кодирующего ксилоглюкан эндотрансглюкозилазу/гидролазу 19 *N. benthamiana* (NbXTH19). Повышенная экспрессия *NbXTH19* приводит к активации межклеточного транспорта: при ко-экспрессии 35S-2xGFP с 35S-NbXTH19 доля 1-клеточных кластеров, содержащих 2xGFP, падает по сравнению с контролем (ко-экспрессии 35S-2xGFP с вектором pCambia), а доля многоклеточных кластеров, состоящих из 2, 3 или более клеток, возрастает. Ранее показано, что NbXTH19 подвергается N-гликозилированию по остатку аспарагина в положении 114 [1]. Его вариант NbXTH19mut с заменой Asn114 на аланин не является гликопротеином. Так как отсутствие посттрансляционных модификаций может влиять на корректный фолдинг и функциональную активность белка, была проведена оценка влияния суперэкспрессии *NbXTH19mut* на распространение 2xGFP. Оказалось, что эффект повышенной экспрессии *NbXTH19mut* в отношении межклеточного транспорта макромолекул не отличается от эффекта, наблюдаемого при использовании 35S-NbXTH19.

Вирусы используют ПД для распространения по ткани, этот этап необходим для успешного развития инфекции. При этом ранее было показано, что экспрессия *NbXTH19* [2] повышается при заражении вирусом. Для проверки гипотезы о влиянии NbXTH19 на распространение вирусной инфекции была проведена оценка эффективности ближнего транспорта BTM:GFP. Показано, что при ко-экспрессии BTM:GFP с 35S-NbXTH19 или 35S-NbXTHmut наблюдается тенденция к увеличению доли фокусов большего размера по сравнению с контрольной комбинацией (BTM:GFP+pCambia).

Выводы: Повышенная экспрессия *NbXTH19* стимулирует межклеточный транспорт макромолекул и способствует распространению вирусной инфекции по ткани, при этом наличие сайта гликозилирования N114 не является ключевым для реализации этой функции NbXTH19.

Финансирование: Исследование выполнено за счет гранта РНФ № 19-74-20031, https://rscf.ru/project/19-74-20031/.

Список литературы

1 Шешукова Е.В., Ершова Н.М., Антимонова А.А., Камарова К.А., Комарова Т.В. Сборник тезисов XI Международной конференции молодых ученых: биоинформатиков, биотехнологов, биофизиков, вирусологов, молекулярных биологов и специалистов фундаментальной медицины. Разд. V. 2024;573-574
2 Ershova N., Sheshukova E., Kamarova K., Arifulin E., Tashlitsky V., Serebryakova M., Komarova T. *Front Plant Sci.* 2022;13:1041867

doi 10.18699/PlantGen-2025-107

Разнообразие пластотипов представителей подрода *Idaeobatus* Focke рода *Rubus* L. на территории Русского Алтая

А.М. Камнев*, О.Ю. Антонова, И.Г. Чухина
Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург, Россия
** antonkamen@mail.ru*

Цель: На территории Алтайского края и Республики Алтай (объединяемых рядом исследователей в единый регион Русский Алтай) проходит граница двух представителей подрода *Idaeobatus* рода *Rubus* (подрод малина) – *Rubus idaeus* L. (малины обыкновенная) и *Rubus sachalinensis* Levl. (малина сахалинская); есть также сведения о произрастании здесь вида *Rubus euroasiaticus* Sinjk., являющегося гибридом двух вышеупомянутых видов. Изучение генетического разнообразия видов, включая полиморфизм их пластомов, на данной территории, к тому же отличающейся разнообразием природных зон, представляет особый интерес, в том числе и для понимания эволюционных процессов. Поэтому целью исследования было изучить рестрикционный полиморфизм ряда пластидных локусов на выборке представителей подрода *Idaeobatus* рода *Rubus* на территории Русского Алтая.
Материалы и методы: Материалом послужили 76 ДНК-препаратов, полученных из гербарных образцов представителей подрода *Idaeobatus* рода *Rubus*, хранящихся в гербарных фондах ALTB, NS и NSK: 70 таких образцов были собраны на территории Русского Алтая, еще 6 образцов *R. sachalinensis* собраны на территории Восточной Сибири. Кроме того, 21 ДНК-препарат был получен из живых представителей подрода *Idaeobatus*, собранных в 2021 году в ходе экспедиции в районах соприкосновения ареалов *R. idaeus* и *R. sachalinensis*. Таким образом, всего изучили 97 образцов дикорастущих популяций, из них 53 образца относились к *R. idaeus* и 44 образца – к *R. sachalinensis*. Дополнительно в анализ включили 16 сортов малины селекции НИИСС им. М.А. Лисавенко (г. Барнаул, Алтайский край). ДНК была выделена модифицированным CTAB-методом, для гербарных образцов применялась предварительная обработка буфером, содержащим сорбитол (Inglis et al., 2018). По результатам *in silico* анализа представленных в базе данных NCBI пластомов видов подрода *Idaeobatus* рода *Rubus* для исследования были отобраны следующие спейсеры: *ndhC-trnV*, *petN-psbM*, *psbE-petL*, *rbcL-accD*, *rpl20-clpP*, *rpl20-rps12*, *trnC-petN*, *trnK-rps16*, *trnS-trnG*. Для изучения рестрикционного полиморфизма отобранных локусов использовали рестриктазы AluI, DraI, HinfI, MnlI, TaqI. Полученные данные сводились в единую базу данных, созданную при помощи пакета WPS Office.
Результаты: Всего в изученной выборке было выявлено 24 пластотипа: 8 у образцов *Rubus sachalinensis*, и 16 у образцов *R. idaeus*. Наибольшее распространение у *R. idaeus* имел «культурный» пластотип, встречающийся у 21 дикорастущего образца (39,6%) и у большинства сортов селекции НИИСС им. М.А. Лисавенко, за исключением сортов ‘Блеск’, ‘Зоренька Алтая’, ‘Затонская’, ‘Огонёк’ и ‘Рубиновая’, каждый из которых имел уникальный пластотип. Вторым по распространенности пластотипом оказался «западноалтайский», отличающийся от «культурного» рестрикционным профилем в локусе *psbE-petL*; он встречается у 14 образцов (26,4%), собранных в предгорьях и низкогорьях Алтайского края. Среди образцов *R. sachalinensis* более всего распространенным (50,0%) оказался «восточносибирский» пластотип, обнаруженный у 4 из 6 изученных образцов этого вида из Восточной Сибири (исключение составили образцы из Республики Саха (Якутия) и Братского района Иркутской области, имеющие каждый свой уникальный пластотип). «Восточносибирский» пластотип также был обнаружен у 4 образцов *R. idaeus* из Чарышского и Курьинского районов Алтайского края (17,3%). Вторым по распространенности у *R. sachalinensis* (23,6%) оказался пластотип, получивший название «предгорный», поскольку он был распространен в предгорьях и низкогорьях Алтайского края и Республики Алтай. Он отличается от восточносибирского по рестрикционному профилю локуса *trnC-petN*. У 7 образцов *R. sachalinensis*, преимущественно из Чарышского и Курьинского районов Алтайского края (18,4%) выявлен «культурный» пластотип, характерный для сортов *R. idaeus*. Большое количество образцов имели уникальные и редкие (частота встречаемости ~ 1%) пластотипы: 3 образца (7,8%) у *R. sachalinensis* и 14 образцов (26,4%) у *R. idaeus*. Такие образцы были распространены преимущественно в предгорьях и низкогорьях Алтайского края (Чарышском, Курьинском, Змеиногорском и Смоленском районах).
Выводы: Выявлено большое разнообразие пластидных геномов в изученной выборке. Наибольшее разнообразие пластотипов выявлено в Чарышском, Курьинском, Змеиногорском и Смоленском районах Алтайского края, что, с одной стороны, может быть связано с наложением ареалов *R. idaeus* и *R. sachalinensis* в данных районах и возможными гибридизационными процессами, а с другой, косвенно указывать на уникальность местной флоры.
Финансирование: Исследование выполнено в рамках госзадания по теме № FGEM-2022-0008.

doi 10.18699/PlantGen-2025-108

Роль регуляторных элементов промотора гена транскрипционного фактора NIN и структурных особенностей его доменов в регуляции поздних стадий органогенеза клубеньков у бобовых

Е.С. Канцурова*, А.В. Долгих, П.Ю. Козюлина, Е.А. Сальникова, Е.А. Долгих
Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия
** es.kantsurova@arriam.ru*

Цель: Транскрипционный фактор NIN (NODULE INCEPTION) является основателем семейства NIN-подобных белков (NLP), которые широко представлены практически во всех группах растений. Несмотря на общее сходство всех белков NLP, только NIN был рекрутирован для выполнения ключевой роли в регуляции развития ризобиального симбиоза. Он необходим для контроля развития инфекции, регуляции органогенеза клубеньков, а также вовлечен в системную регуляцию клубенькообразования. На сегодняшний день предложены две гипотезы, объясняющие многообразие функций NIN в развитии бобово-ризобиального симбиоза: протеолитическое расщепление транскрипционного фактора NIN с проявлением разной активности у образованных форм и наличие разнообразных регуляторных мотивов в промоторе гена NIN, обеспечивающие его избирательную активацию в разных тканях. В данной работе были рассмотрены обе гипотезы и проведен анализ данных, объясняющих участие NIN в регуляции различных процессов при симбиозе.
Материалы и методы: Был проведен скрининг библиотек кДНК корней гороха (7 суток после инокуляции), транслируемых в клетках дрожжей, с помощью дрожжевой двугибридной системы, совмещенной с высокопроизводительным секвенированием для выявления новых ко-регуляторов транскрипционного фактора NIN. Одним из основных методов является получение композитных растений гороха посевного (*Pisum sativum* L.), который был использован для локализации активности промотора гена *NIN* и комплементации мутантов гороха по этому гену. Была проведена иммунопреципитация хроматина на трансгенных корнях гороха, с последующим высокопроизводительным секвенированием (ChIP-Seq-анализ) для выявления новых генов-мишеней транскрипционного фактора PsNIN в растениях с недетерминированным типом клубеньков.
Результаты: Ряд регуляторов, показавших взаимодействие с NIN в дрожжевой двугибридной системе, могут непосредственно участвовать в посттрансляционной модификации белков. В связи с тем, что ранее была предсказана возможность протеолиза транскрипционного фактора NIN для контроля его активности, выявленные нами регуляторы могут выполнять такую функцию. Кроме того, нами были выявлены уникальные мотивы в аминокислотной последовательности NIN, которые могут быть специфичными для транскрипционного фактора NIN у бобовых с недетерминированным типом клубеньков.
Промотор гена *NIN* содержит по меньшей мере три регуляторных элемента, участвующих в контроле пространственно-временной активности этого гена, что было показано на модельных бобовых растениях. Предполагается, что активация гена *NIN* в эпидермисе регулируется транскрипционным фактором IPD3/CYCLOPS и комплексом транскрипционных факторов NSP1/NSP2 через CYC- и NSP-регуляторные элементы (Liu et al., 2019). Это приводит к активации транскрипционным фактором NIN комплекса регуляторов инфекционного процесса в эпидермисе, а также стимулирует выработку неизвестного фактора X, который перемещается из эпидермиса в перицикл и эндодерму и стимулирует в этих тканях накопление цитокининов. Регулятор цитокининового ответа транскрипционный фактор RR Б-типа связывается с другой регуляторной последовательностью в промоторе (CE-элементом), что стимулирует дополнительную экспрессию *NIN* в этих тканях и связанную с ней активацию пролиферации клеток перицикла и эндодермы и закладку примордия клубенька. Наряду с тремя этими регуляторными элементами, более детальный анализ промоторной области гена *NIN* гороха позволил нам выявить еще один GA-регуляторный элемент, который активируется гиббереллинами и может быть важен для стимуляции дальнейших этапов формирования клубенька из его примордия. С использованием транскриптомного анализа и иммунопреципитации хроматина нами впервые был выявлен набор генов, которые регулируются транскрипционным фактором NIN на более поздних этапах морфогенеза клубеньков у гороха под влиянием цитокининов.
Выводы: В ходе данной работы были выявлены новые механизмы регуляция транскрипционного фактора NIN у гороха при развитии симбиоза с клубеньковыми бактериями.
Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ № 24-16-00180.

doi 10.18699/PlantGen-2025-109

Изучение качества клеточных стенок у ресурсных видов рода *Miscanthus* Anderss. для получения более качественной лигноцеллюлозной биомассы

С.Ю. Капустянчик[1]*, А.С. Гусар[2]**
[1] *СибНИИРС – филиал ИЦиГ СО РАН, р.п. Краснообск, Новосибирская область, Россия*
* *kapustyanchik@bionet.nsc.ru*
[2] *Центральный сибирский ботанический сад Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия*
** *gusara663@gmail.com*

Цель: провести химический и гистохимический анализ видов рода *Miscanthus* для выявления наиболее перспективных технических растений.
Материалы и методы: В исследовании были приведены два вида и один гибрид *Miscanthus*: *M. sinensis*, *M. sacchariflorus* и *M.* × *giganteus*, произрастающие на территории научно-экспериментальной базы СибНИИРС – филиал ИЦиГ СО РАН (Новосибирский район (54°53'13,5"N; 82°59'36,7E")). Были отобраны сухие вегетативные побеги на заключительной стадии вегетации. Химический состав сырья определяли традиционными «мокрыми» химическими методами в ИПХЭТ СО РАН (г. Бийск). Гистохимический анализ проводили в центре коллективного пользования ЦСБС СО РАН: брали части стебля длиной 8–10 см. Побеги продольно нарезали скальпелем на бруски длиной около 3мм, помещали на замораживающий микротом и выполняли поперечные сечения 60–90 мкм. Окрашивание осуществляли флороглюцином в соляной кислоте и альциановым синим в уксусной кислоте по стандартным методикам. Микроскопирование с фотосъемкой выполняли на световом микроскопе SteREO Discovery.V12.
Результаты: В пределах рода *Miscanthus* присутствует большая изменчивость признаков, влияющих на качество клеточной стенки. Различия в составе клеточной стенки в значительной степени определяются генетически, но могут влиять условия окружающей среды, стадии развития и используемые химические анализируемые методы. Проведенный химический анализ надземной биомассы *Miscanthus* на содержание органических компонентов, подтвердил ценность образцов для переработки, прежде всего, в целлюлозно-бумажной промышленности.
Целлюлоза, составляющая наибольшую долю зрелой клеточной стенки в изучаемых образцах *Miscanthus*, является основным компонентом в стеблях (от 40% в *M. sinensis* до 50% в *M. sacchariflorus*), за ней следуют пентозаны (от 17 – в *M.* × *giganteus* до 24% в *M. sacchariflorus*) и лигнин, являющийся главным ограничивающим фактором для эффективного разрушения клеточной стенки, имеющий более низкое значение у *M. sacchariflorus* по сравнению с образцами *M. sinensis* и *M.* × *giganteus*. По результатам химического анализа более перспективным образцом является *M. sacchariflorus* с повышенным содержанием целлюлозы и пониженным содержанием лигнина. Виды рода *Miscanthus* являются лидерами среди культур, предназначенных для производства биоэнергии. Ключевым фактором для преобразования растительной биомассы в биотопливо и биоматериалы является качество клеточных стенок. Для изучения особенностей одревесневших соломин были проведены гистохимические исследования. Клеточные стенки мискантуса представляют собой очень сложные структуры. Сначала образуется первичная клеточная стенка, состоящая из целлюлозы, пентозанов и пектина, далее в клетках склеренхимы располагается вторичный слой клеточной стенки, имеющий более толстую структуру, в которой целлюлоза и гемицеллюлоза связаны лигнином, создавая усиленную гидрофобную сеть, обеспечивающую дополнительную прочность и жесткость и защиту от различных стрессов. Таким образом, образуется усиленная гидрофобная сеть, обеспечивающая дополнительную жесткость, прочность и защиту от различных факторов стресса. Проведенный гистохимический анализ показал, лигнификации наиболее выражен в склеренхиме и паренхиме проводящих пучков, эпидермисе и частично в паренхиме стебля. Побеги у изучаемых образцов *Miscanthus* имеют типичное для однодольных растений строение. Соломина снаружи имеет тонкий однослойный эпидермис, имеются закрытые коллатеральные проводящие пучки, основная паренхима. Центр соломины полый, паренхима сердцевины отсутствует. У изученных образцов выявлены отличия по числу проводящих пучков, а также по степени выраженности склеренхимы в них, клетки которой имеют толстые лигнифицированные оболочки.
Выводы: На основании проведенного анализа побегов *Miscanthus* можно предположить, что изучаемые образцы накапливают различное количество целлюлозы в сухих соломинах, что отражается на промышленной переработке биомассы, причем процесс лигнификации выражен склеренхиме и паренхиме проводящих пучков, а также в эпидермисе. Наиболее перспективным для целей переработки сырья в условиях лесостепи Новосибирского Приобья является *M. sacchariflorus* с более высоким содержанием целлюлозы и низким содержанием лигнина.
Финансирование: Исследование поддержано бюджетным проектом ИЦиГ СО РАН № FWNR-2022-0018 и проектом ЦСБС СО РАН № АААА-А21-121011290025-2.

doi 10.18699/PlantGen-2025-110

Анализ вариаций в геномах картофеля на основе данных полногеномного секвенирования

Д.И. Каретников[1]*, Г.В. Васильев[1], С.В. Тощаков[2], Н.А. Шмаков[1], М.А. Генаев[1], М.А. Нестеров[1], С.М. Ибрагимова[1], Д.А. Рыбаков[3], Т.А. Гавриленко[3], Е.А. Салина[1], М.В. Патрушев[3], А.В. Кочетов[1], Д.А. Афонников[1]

[1] *Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия*
[2] *НИЦ Курчатовский институт, Москва, Россия*
[3] *ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия*
* *karetnikovmit@bionet.nsc.ru*

Цель: *Solanum tuberosum* L. – важнейшая сельскохозяйственная культура, выращиваемая практически во всем мире. Общий объем производства составляет более 370 млн тонн в год, а количество сортов превышает 4000. Картофель является автотетраплоидом, обладает высокой гетерозиготностью, обусловленной преимущественно вегетативным способом размножения. Полногеномное секвенирование открывает путь к изучению структуры генома картофелю, выявлению однонуклеотидных полиморфизмов, связанных с различными фенотипическими признаками. Одной из важных особенностей анализа генома является вариабельность числа копий (CNV), определяемая как участки генома размером от 1 Кб до нескольких мегабаз, которые демонстрируют разное количество копий в популяции. На функциональном уровне CNV связан с генами, участвующими в стрессовых реакциях и устойчивости к различным факторам.
Ранее было секвенировано 15 сортов картофеля *S. tuberosum*, выращиваемых в России. На основе секвенированных геномов был реконструирован пангеном и определены потенциальные CNV, ассоциированные с генами. В этой работе выборка картофеля, выращиваемого в России, была расширена.
Материалы и методы: Геномы *S. tuberosum* была секвенированы с использованием платформы Illumina, что позволило реконструировать геномы *de novo*. На основе коротких прочтений и референсного генома DM1-3 версии 6 с помощью CNVpytor были идентифицированы CNV в геномах. Кроме того, мы идентифицировали SNP, короткие инсерции и делеции во всех хромосомах с помощью программного комплекса GATK. Все выявленные варианты были функционально аннотированы, на основе чего были выявлены варианты, связанные с высоким функциональным вкладом в набор генов, ассоциированных с циркадными ритмами, созреванием и клубнеобразованием. Также на основе коротких прочтений были реконструированы пластомы отечественных сортов картофелю и выявлены их типы.
Результаты: Реконструированный пангеном картофеля *S. tuberosum* сортов отечественной селекции продемонстрировал увеличение вариабельной части, что говорит о том, что пангеном картофеля отечественных сортов является открытым. Анализ CNV выявил количественные различия между сортами, выращиваемыми в России, и южноамериканскими сортами, которые связаны с генами, ассоциированными с циркадными ритмами картофеля. Кроме того, короткие считывания позволили идентифицировать однонуклеотидные полиморфизмы во всех геномах и провести их дальнейший количественный анализ, а также сравнительный относительно различных сортов Европы и дикого картофеля. Дополнительно мы оценили встречаемость полиморфизмов с высоким функциональным вкладом в генах, ассоциированных с созреванием картофеля, а также проанализировали аллельное разнообразие гена StCDF1, являющегося главным регулятором созревания картофеля, влияя на сроки клубнеобразования.
Выводы: Таким образом, мы провели комплексный анализ геномов картофеля *S. tuberosum* отечественных сортов, оценив встречаемость CNV, частоты SNP и InDel, а также частоты аллелей гена StCDF1. Помимо этого мы выявили типы хлоропластной ДНК картофеля.
Финансирование: Работа выполнена за счет финансирования бюджетного проекта FWNR-2022-0020. Вычисления проводились с использованием ресурсов ЦКП «Биоинформатика».

doi 10.18699/PlantGen-2025-111

Разработка набора SSR-маркеров для сортовой идентификации сои

М.В. Климушина*, М.А. Самарина, Д.С. Ульянов, А.С. Ермолаев, П.Ю. Крупин, Г.И. Карлов, М.Г. Дивашук

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», Москва, Россия

** mklimushina@gmail.com*

Цель: Соя (*Glycine max*) является ценной сельскохозяйственной культурой, широко используемой в различных отраслях производства. Разработка новых адаптивных сортов сои обусловливает необходимость строгого контроля качества и подлинности семенного материала, а также анализа существующих сортов [1, 2]. Поддержание сортовой чистоты этой стратегически важной культуры остается одной из приоритетных задач современного семеноводства. Однако морфологических признаков зачастую оказывается недостаточно для надежной оценки отличимости, однородности и стабильности сортов. Решением данной проблемы может служить создание паспортов на основе полиморфизма микросателлитных локусов (SSR), который дает возможность не только достоверно дифференцировать сорта в ходе семеноводства, но и при селекции подбирать наиболее генетически удаленные родительские формы с целью получения высокоэффективных гибридов [3]. Формирование базы генетических профилей сортов также позволяет оценить и внутрисортовое разнообразие (биотипы), обеспечивающее адаптивность культуры.

Материалы и методы: Выделение ДНК проводили с помощью станции для автоматического выделения нуклеиновых кислот Auto-Pure 96 (Allsheng, Китай) набором «МагноПрайм ГМО» (Интерлабсервис, Россия) согласно протоколу производителя. ПЦР-амплификацию осуществляли по единому для всех пар праймеров режиму в стандартной ПЦР-смеси (Mg2+ 2.5мМ, dNTP 0.25мМ, с добавлением 80мг BSA). Продукты амплификации визуализировали методом капиллярного электрофореза с помощью генетического анализатора Нанофор05 (ИАП, Синтол, Россия).

Результаты: В результате проведенного исследования была разработана оптимальная методика для сортовой идентификации, позволяющая получить информацию о биотипном составе сортов. В ходе биоинформатический и экспериментальной работы был сформирован минимальный дискриминирующий набор из 15 SSR-маркеров, который позволил однозначно дискриминировать сорта, анализируемых коллекций. Отобранные маркеры прошли проверку чувствительности к примесям, показали высокую специфичность амплификации и были объединены в смеси праймеров для использования в мультиплексной ПЦР. По данным, полученным при анализе коллекции, состоящей из 40 сортов и линий сои, для каждого локуса были рассчитаны основные характеристики результативности и информативности (Na (3–8), Ne (2–4,7, в среднем 2,9 на локус), PIC (0,45–0,8, в среднем 0,63)), которые также подтвердили хороший уровень работы подобранного набора маркеров.

Выводы: Разработанный набор маркеров может быть использован для идентификации сортов сои на разных этапах селекционного процесса, что позволит значительно сократить время и качественно улучшить процесс получения новых сортов.

Финансирование: Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, государственное задание FGUM-2023-0005.

Список литературы

1 Пащенко И.А., Самелик Е.Г. Генетическая паспортизация сортов сои на основе микросателлитных маркеров. В: Научное обеспечение агропромышленного комплекса. Краснодар, 2022;140-143

2 Савиченко В.Г., Рамазанова С.А., Гучетль С.З. Поиск информативных SSR-маркеров для паспортизации сортов сои. *Масличные культуры*. 2024;2:10-15

3 Рамазанова С., Коломыцева А. Оптимизация технологии генотипирования сои на основе анализа полиморфизма SSR-локусов ДНК. *Масличные культуры*. 2020;1:42-48

doi 10.18699/PlantGen-2025-112

Повышение точности обнаружения колосьев на полевых изображениях на основе глубокого машинного обучения без учителя

М.В. Кожекин[1]*, В.С. Коваль[1], М.А. Генаев[1], В.В. Советов[2], Д.А. Афонников[1]
[1] *Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия*
[2] *СибНИИРС – филиал ИЦиГ СО РАН, р.п. Краснообск, Новосибирская область, Россия*
** kozhekinMV@bionet.nsc.ru*

Цель: Пшеница – одна из наиболее важных сельскохозяйственных культур, которая обеспечивает питанием существенную часть населения в мире. Для увеличения эффективности проведения селекционно-генетических экспериментов необходима разработка информационных технологий фенотипирования растений. Одна из важных задач фенотипирования пшеницы – идентификация колосьев растений на изображениях, полученных в полевых условиях для оценки продуктивности посевов [1]. Существующие методы решения этой задачи основаны на использовании нейронных сетей глубокого обучения [2] и, несмотря на то что дают достаточно точные результаты, имеют ряд недостатков. Во-первых, для обучения требуется разметка тысяч изображений, что является трудоемкой работой. Во-вторых, разметка колосьев осуществляется вертикально ориентированными прямоугольниками, что не позволяет точно выделить области колоса, если они развернуты под углом.
Работа посвящена разработке метода идентификации колосьев на основе (1) методов обучения без учителя, что позволяет снизить затраты на разметку изображений; (2) использования развернутых рамок для выделения колосьев на изображении.
Материалы и методы: В работе использовались различные наборы изображений из публикаций [3], выборки Global Wheat Head Detection (GWHD-2021) [4], WILDS [5] и полученные нами в разные сезоны на полях СибНИИРС, всего более 120 тыс. В работе использовались различные архитектуры сетей (Rotated Faster R-CNN, Rotated RetinaNet, ReDet, YOLO-v12).
Результаты: Первоначально с использованием ~ 1000 изображений (из [3] и собственных) и сетей архитектур Rotated Faster R-CNN, Rotated RetinaNet, ReDet, было показано, что использование развернутых рамок для разметки и распознавания колосьев дает увеличение точности подсчета колосьев (значения R^2 для подсчета колосьев на изображении составили 0.824 для развернутых рамок против 0.540 для неразвернутых).
С использованием метода обучения без учителя BYOL была проведена заново разметка GWHD-2021 изображений развернутыми рамками с помощью сети YOLO-v12 (начальные веса получены на выборке WILDS). Точность распознавания колосьев составила при этом 96.45% по метрике mAP50 и 84.49% по метрике mAP50-95. Эта сеть была использована нами для распознавания колосьев на изображениях посевов пшеницы СибНИИРС 2023 и 2024 гг., для которых плотность продуктивных колосьев была оценена вручную. Это позволило оценить точность подсчета колосьев вручную и с помощью нейронных сетей. Для посевов 2023 г. коэффициент корреляции Пирсона между двумя оценками составил 0.521 для посевов 2024 г. и 0.467 для посевов 2023 г.
Выводы: Предложенный подход с использованием обучения без учителя и разметкой колосьев рамками с поворотом повышает устойчивость распознавания колосьев на полевых изображениях и точность их подсчета.
Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ № 23-14-00150.

Список литературы

1 Kozhekin M. et al. Wheat yield estimation based on analysis of UAV images at low altitude. *BIO Web Conf*. 2022;47:05006. doi 10.1051/bioconf/20224705006
2 David E. et al. Global wheat head detection challenges: Winning models and application for head counting. *Plant Phenomics*. 2023;5:0059. doi 10.34133/plantphenomics.0059
3 Badhon M.A., Stavness I. Wheat and Car Dataset with Rotated Bounding Box Annotations. 2020. doi 10.6084/m9.figshare.13014230.v1
4 David E. et al. Global wheat head detection 2021: An improved dataset for benchmarking wheat head detection methods. *Plant Phenomics*. 2021;2021:9846158. doi 10.34133/2021/9846158
5 Sagawa S. et al. Extending the wilds benchmark for unsupervised adaptation. *ArXiv*. 2021

doi 10.18699/PlantGen-2025-113

Молекулярно-генетический и цитологический контроль *Beta vulgaris* L.

Е.О. Колесникова*, С.В. Пономарева, Р.В. Бердников
ООО «СоюзСемСвекла», 396030, Воронежская область, м.р-н Рамонский, с. п. Айдаровское, п. ВНИИСС, Россия
** kolesnikovaeo@souzsemsvekla.ru*

Цель: разработать систему контроля и отбора перспективных форм сахарной свёклы с применением молекулярно-генетического и цитологического анализа для повышения результативности скрещиваний в селекционной практике.

Материалы и методы: объектами исследования явились растения О-типов и МС форм *Beta vulgaris* L. Материалы в виде листьев и бутонов отбирали в групповых изоляторах в полевых условиях по 100 образцов каждой формы. В ходе работ был проведен молекулярно-генетический анализ отобранных образцов сахарной свёклы с использованием ДНК-маркеров подтверждения стерильности цитоплазмы и идентификации преобладающего невосстанавливающего аллеля цитоплазматической мужской стерильности. Детекцию продуктов ПЦР проводили с помощью электрофореза в 1xTBE буфере в 2% агарозе. Анализ и обработку электрофореграмм проводили с помощью системы гель-документирования GelDoc Go BioRad и программного обеспечения Image Lab. Для проведения микроскопического анализа пыльцы у образцов были взяты бутоны верхних частей соцветий. Окраску материала проводили раствором ацетокармина. Затем подсчитывали количество пыльцевых зерен в полях зрения, вычисляли процент фертильности пыльцы отношением количества хорошо окрашенных фертильных пыльцевых зерен к количеству слабоокрашенных, имеющих прозрачную цитоплазму и деформированных – стерильных пыльцевых зерен, изучали строение и измеряли размер зерен. Цитологические исследования, фотографии и измерения проводили с помощью Zeiss Axiolab A1 с цифровой фотокамерой, объективом с увеличением ×40.

Результаты: в ходе молекулярно-генетического исследования нами были отработаны условия для проведения ПЦР с маркерами, позволяющими выявить тип цитоплазмы и тип ядра, используя ДНК-маркеры подтверждения стерильности цитоплазмы и идентификации преобладающего невосстанавливающего аллеля цитоплазматической мужской стерильности. При отработке данного подхода было установлено, что все исследуемые образцы соответствовали предполагаемой селекционной форме. При этом нормальную цитоплазму и стерильное ядро, характерные для О типа, имели 100% фертильных образцов. Все образцы МС формы имели стерильную цитоплазму и стерильное ядро. Цитологический анализ позволил получить данные о строении и размере пыльцевого зерна, качеству пыльцы, посчитать процент фертильности и распределения фертильной и стерильной пыльцы у исследуемых образцов, выявить наличие дефектных зерен. Качество данных исследуемых показателей является составляющей успеха опыления и завязываемости семян. Были выделены группы растений О типа с фертильностью 85–100%, 100% стерильные растения МС формы и полуфертильные растения О типа с фертильностью 48–65%. Изучаемые пыльцевые зерна фертильных растений сахарной свёклы имели округлую форму, крупное вегетативное ядро и два спермия. Визуализировались две оболочки: наружная – экзина, прочная и стойкая, и внутренняя – интина. В экзине различались тонкие участки или отверстия, апертуры – борозды или поры. Измерение размера ярко окрашенных пыльцевых зерен у фертильных образцов показало, что их диаметр в среднем составляет 10,0–10,9 μм. Деформация и наличие стерильных пыльцевых зерен в образцах отсутствовали. Пыльца полуфертильного образца включала ярко и слабоокрашенные пыльцевые зерна, микро- и макропыльцу, зерна с прозрачной оболочкой – стерильные и деформированные пыльцевые зерна. Размеры зерен варьировались от 17,4 μм (макропыльца) до 5,0 μм (микропыльца). У стерильных образцов пыльцевые зерна отсутствовали, либо встречались в небольшом количестве (прозрачные, деформированные, размером от 6,3 до 7,8 μм). Полученные данные позволили распределить исследуемые образцы на группы с различной степенью фертильности. Результаты молекулярно-генетического и цитологического исследований соотносились между собой и подтвердили соответствие отобранных образцов соответствующей селекционной форме.

Выводы: Использование системы маркеров позволило провести анализ и подтвердить тип цитоплазмы и ядра у исследуемых образцов генотипов-носителей ЦМС и О типа. С помощью цитологического контроля были выделены группы растений с высокими показателями фертильности и стерильности, которые можно рекомендовать для дальнейших селекционных работ. Внедрение разработанной системы контроля, включающей молекулярно-генетическую и цитологическую оценку растений *Beta vulgaris*, дало возможность сократить масштаб отбора, значительно снизить время и трудозатраты, необходимые для реализации селекционных программ. Отработанные подходы легли в основу технологии отбора образцов, что позволило интенсифицировать процесс создания перспективных линий и гибридов сахарной свёклы.

doi 10.18699/PlantGen-2025-114

Особенности активации экспрессии гена *ViB3 Nicotiana benthamiana*

Т.В. Комарова[1, 2]*, А.Р. Алимова[1, 2], Я.Ю. Савченко[3], Е.В. Шешукова[1], К.А. Камарова[1], Н.М. Ершова[1]
[1] *Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия*
[2] *Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва Россия*
[3] *Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Россия*
* *t.komarova@belozersky.msu.ru*

Цель: Исследование механизмов регуляции экспрессии гена *ViB3 Nicotiana benthamiana* в условиях вирусной инфекции.

Материалы и методы: Последовательность промоторной области гена *ViB3 N. benthamiana* идентифицирована по базе данных SolGenomicsNetwork (https://solgenomics.net/). Для амплификации и получения генноинженерных конструкций на основе промотора *ViB3* использованы стандартные методы молекулярного клонирования. Анализ уровня экспрессии генов осуществляли с помощью количественной ПЦР, предваряемой обратной транскрипцией. Доставку генетического материала в клетки листьев *N. benthamiana* проводили при использовании *Agrobacterium tumefaciens*, штамм GV3101, путем инфильтрации. Растения с системной инфекцией вируса табачной мозаики (ВТМ) и Y вируса картофеля (YВК) получали при использовании инокулюма, содержащего вирусные частицы. Для заражения растений ВТМ крестоцветных (крВТМ) и X вирусом картофеля использовали соответствующие плазмиды, кодирующие инфекционную копию вируса, которые доставляли в клетки нижних листьев растений с помощью агроинфильтрации.

Результаты: В ответ на инфекцию ВТМ запускается экспрессия множества генов, среди которых в растении *N. benthamiana* был идентифицирован ген *ViB3* (virus-induced B3 domain containing), кодирующий ядерный белок. Согласно биоинформатическому анализу белок ViB3 относится к семейству транскрипционных факторов, содержащих ДНК-связывающие B3 домены. Члены этого семейства играют важную роль в различных процессах роста и развития растений [2]. В геноме *N. benthamiana* с помощью сравнительного анализа были идентифицированы гены, кодирующие белки, содержащие домен(ы) B3. Эти белки были классифицированы на четыре подсемейства на основе их филогенетических связей, а именно: ARF, RAV, LAV и REM. ViB3 относится к наиболее многочисленному, но наименее изученному подсемейству REM. В составе ViB3 обнаружено два домена B3, а также предположительный сигнал ядерной локализации. Ранее нами было показано, что экспрессия *ViB3* активируется в сотни раз в ответ на системную инфекцию ВТМ [1]. В настоящей работе мы продемонстрировали, что *ViB3* индуцируется и при системной инфекции вирусами других таксономических групп, а именно, Potexviridae (X вирус картофеля) и Potyviridae (Y вирус картофеля). Кроме того, при инфекции родственным ВТМ тобамовирусом (крВТМ) наблюдается повышение экспрессии *ViB3* в 40–50 раз. Повышение уровня накопления мРНК гена как правило связано с активацией промотора. Поэтому была проанализирована последовательность, расположенная перед кодирующей областью ViB3, и при использовании репортерного гена показано, что она выполняет функцию промотора. В составе ПрViB3 обнаружены регуляторные элементы, которые задействованы при ответах на стрессы и в защитных реакциях растения, в том числе чувствительные к салициловой кислоте, играющей существенную роль в антивирусной защите.

Выводы: Экспрессия *ViB3 N. benthamiana* активируется в ответ на заражение вирусами разных таксономических групп. ПрViB3 содержит *цис*-элементы, функционирование которых связано со стрессовыми условиями, в том числе с воздействием биотических факторов. Белок ViB3 принадлежит к подсемейству REM семейства транскрипционных факторов, содержащих домен B3.

Финансирование: Исследование выполнено за счет гранта РНФ № 19-74-20031, https://rscf.ru/project/19-74-20031/.

Список литературы

1 Мавренкова К.А., Комарова Т.В., Ершова Н.М. Новый клеточный фактор *Nicotiana benthamiana*, содержащий ДНК-связывающий домен B3, подавляет развитие тобамовирусной инфекции. В: Международный конгресс «VIII съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященный 300-летию российской науки и высшей школы». Санкт-Петербург, 2024;387
2 Swaminathan K., Peterson K., Jack T. *Trends Plant Sci*. 2008;13:647-655

doi 10.18699/PlantGen-2025-115

Оценка редокс-статуса генетически вариабельных *in vitro* культур гибридной березы по данным активности пероксидазы и каталазы

А.В. Константинов[1]*, Т.Н. Куделина[2], С.В. Пантелеев[1]
[1] *Институт леса НАН Беларуси, Гомель, Республика Беларусь*
[2] *Институт экспериментальной ботаники им В.Ф. Купревича НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь*
* *avkonstantinof@mail.ru*

Цель: Изучить особенности антиоксидантных систем и провести сравнение редокс-метаболизма культур тканей сомаклональных вариантов гибридной березы с различной способностью к морфогенезу для выявления их физиолого-биохимического потенциала.
Материалы и методы: Регенерацию микропобегов гибридной (*Betula pubescens* Ehrh. × *B. pendula* Roth.) березы клона 52-84/8 осуществляли из первичных каллусных культур, инициированных из соматических тканей листьев, полученных на апикальных сегментах ветвей в лабораторных условиях. Использовали модифицированную питательную среду Мурасиге и Скуга (MS), дополненную 6-бензиламинопурином, индолил-3-масляной кислотой и тидиазуроном в концентрациях 5,0, 0,4 и 0,1 мг/л$^{-1}$ соответственно. Генетический анализ на основе RAPD-метода с использованием эмпирически подобранного набора праймеров UBC-106, UBC-154, UBC-203, UBC-254, UBC-268 показал различия отдельных линий регенерантов *in vitro*, культивируемых как самостоятельные с присвоением шифров SCh1-SCh9 (сомаклоны) SCh10 (контрольная линия). Активность ферментов АОС определяли спектрофотометрически: каталазы – по методу Luck (1965), пероксидазы – методом Kumar (1982) в расчете на содержание белка, определяемого по Bradford (1976) по реакции с Кумасси.
Результаты: От пассажа к пассажу отмечали неравномерность роста линий березы и морфологические различия отдельных вариантов. После 1,5 месяцев культивирования на четвертом пассаже регенеранты SCh1, SCh2 и SCh9 характеризовались формированием утолщенных и ветвящихся (до 8 шт. боковых побегов) стеблей со слабым развитием листовых пластинок, практически лишенных черешков. Так у линий SCh1 и SCh2 их длина не превышала 3 мм, а у растений линии SCh9 наблюдалась почти полная редукция листьев. Интересным оказался и характер роста междоузлий регенерантов: удлиненные (1–1,5 см и более) участки чередовались с сильно укороченными (менее 0,5 см), при этом именно на укороченных фрагментах происходило интенсивное ветвление. Регенеранты остальных линий проявляли нормальную морфологию. В то же время междоузлия регенерантов линий SCh3 и SCh7 вытягивались и достигали длины 12–15 мм. За счет этого увеличивалась средняя длина побегов, которая составляла 49,8±10,9 и 44,6±12,2 мм соответственно, превышая показатели остальных вариантов. Устойчивость культивируемых клеток растений к окислительному стрессу может служить фактором, обуславливающим особенности их регенерационного потенциала. Измерения активности ферментов АОС выявило ряд существенных различий для изучаемых сомаклональных линий. В отношении каталазы отмечено, что показатели регенерантов SCh1, SCh4 и SCh7 находились на уровне контрольной группы (SCh10), в то время как активность данного фермента в растениях линий SCh3, SCh6 и SCh8 в 2,1, 2,5 и 2,7 раза была выше контрольных значений. Активность каталазы у регенерантов SCh2, SCh5 и SCh9 оказалась существенно (в 4,2–4,7 раза) выше, чем у микроклонов контрольного варианта, что может говорить об устойчивости культивируемых клеток растений к окислительному стрессу и служить фактором, обуславливающим стабильность морфогенеза. Анализ активности пероксидазы установленный для линий SCh1-6 и SCh8 оказался в 2–8 раз ниже уровня для контрольной группы. Растения в контроле и линиях SCh7, SCh9 на момент измерений по активности пероксидазы существенно не различались. Редокс-статус играет существенную роль в регуляции ростовых и обменных процессов растений, определяет биосинтетический потенциал в отношении целого ряда метаболитов, при этом культуры, характеризующиеся различной степенью устойчивости к воздействию активных форм кислорода, могут отличаться и чувствительностью к агентам, индуцирующим окислительный стресс, что может быть использовано в ходе предварительного отбора клонов для вовлечения в селекционный процесс.
Выводы: Таким образом, микрорастения, полученные способом непрямого морфогенеза в культуре соматических тканей, характеризующиеся существенной морфологической изменчивостью, отличались по показателям активности ферментов антиоксидантной системы. Редокс-метаболизм линий регенерантов может выступать в качестве потенциального маркера для комплексной оценки их адаптивной способности в ходе физиологических тестов при клеточной селекции *in vitro*.
Финансирование: Исследование выполнено в ходе выполнения задания 5-08 подпрограммы «Промышленные биотехнологии – 2025» государственной научно-технической программы «Перспективные химические и биологические технологии» на 2021–2025 годы.

doi 10.18699/PlantGen-2025-116

Цифровизация селекционного процесса: платформа для ведения геномной селекции растений компании ООО "Пластилин"

Д.К. Константинов*, Е.И. Григорьева, Н.А. Сапожников, С.Р. Шутенко, Д.Ф. Парфенов, О.А. Ставчанский, О.А. Деревянко, В.С. Буфенко, М.А. Федяев, Н.Н. Касимов, Н.О. Ерофеева, А.Ж. Ревель-Муроз, Д.О. Медведев
ООО "ПЛАСТИЛИН", Москва, Россия
** konstantinov@plastilin.team*

Селекция растений представляет собой сложный и длительный процесс, состоящий из множества последовательных этапов. Ошибки и неточности, допущенные на любом из этих этапов, могут привести к потере перспективных сортов и линий. В связи с этим, разработка унифицированной системы управления полевыми экспериментами становится критически важной. Платформа (https://plastilin.digital/auth) для ведения геномной селекции растений, разработанная компанией ООО "Пластилин", представляет собой комплексное программное решение, предназначенное для оптимизации процесса селекции новых сортов и линий сельскохозяйственных культур. Она интегрирует передовые алгоритмы полевой и геномной селекции, методы машинного обучения и инструменты для управления полевыми работами.

Платформа "Пластилин" состоит из двух взаимосвязанных модулей: полевого и геномного. Полевой модуль обеспечивает возможность составления индивидуализированных планов селекции для каждой культуры и реализует комплексное управление данными, включая хранение и анализ больших объемов данных, полученных в ходе полевых экспериментов. Система обеспечивает хранение мультимодальных данных, включая изображения, фенотипические признаки, даты наступления стадий вегетации и данные ДНК-маркеров. Универсальность алгоритмического ядра платформы обеспечивает ее применимость для широкого спектра сельскохозяйственных культур, включая зернобобовые, злаки и овощные культуры. Платформа реализует комплексный подход, охватывающий весь процесс селекции от планирования экспериментов до анализа результатов и корректировки селекционного цикла.

Геномный модуль платформы использует современные алгоритмы анализа геномов и машинного обучения для точного моделирования фенотипических характеристик сортов в различных экологических условиях. Основные функциональные возможности включают создание геномных паспортов для каждой линии и сорта, содержащих детализированную геномную информацию, разработку геномных моделей для прогнозирования характеристик, таких как урожайность, устойчивость к болезням и абиотическим стрессорам, а также формирование маркерных панелей для быстрого и экономически эффективного скрининга целевых признаков. Платформа "Пластилин" обеспечивает мощную, масштабируемую и гибкую инфраструктуру для современной геномной селекции, способствуя созданию новых сортов и гибридов с заданными характеристиками. Платформа представлена в виде веб версии и мобильного приложения (https://play.google.com/store/apps/details?id = com.plastilin).

doi 10.18699/PlantGen-2025-117

Идентификация генов-репрессоров соматического эмбриогенеза у *Medicago truncatula*

З.С. Константинов[1]*, В.Е. Творогова[1, 2], Э.А. Поценковская[2], Л.А. Лутова[1, 2]
[1] *Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*
[2] *Научно-технологический университет «Сириус», федеральная территория «Сириус», Краснодарский край, Россия*
* *zakhar.konstantinov@mail.ru*

Цель: Протоколы генетической трансформации бобовых культур демонстрируют низкую эффективность из-за слабой регенерационной способности у большинства видов этого семейства. Регенерация растений может осуществляться через формирование побегов с последующим укоренением или посредством соматического эмбриогенеза (СЭ). СЭ представляет собой способ бесполого размножения, основанный на тотипотентности клеток растений, при котором эмбрионоподобные структуры развиваются из соматических клеток. Этот процесс имеет сходство с зиготическим эмбриогенезом, так как оба механизма регулируются схожими транскрипционными, гормональными и эпигенетическими факторами. Как и другие биологические процессы у растений, СЭ контролируется активностью различных генов: стимуляторов или репрессоров. Целью настоящей работы является поиск и изучение генов, подавляющих СЭ у люцерны (*Medicago truncatula*).
Материалы и методы: Для достижения поставленной цели используется транскриптомный анализ, система CRISPR/Cas9, система клонирования GoldenGate, а также вирус-индуцируемый сайленсинг генов (VIGS).
Результаты: Транскриптомный анализ эмбриогенных и неэмбриогенных каллусов *M. truncatula* на различных стадиях развития позволил выявить потенциальные гены-ингибиторы СЭ. С помощью системы Golden Gate были сконструированы векторы для сверхэкспрессии целевых генов в эмбриогенных каллусах с целью изучения их воздействия на СЭ. Эксперименты показали, что сверхэкспрессия трех генов, кодирующих транскрипционные факторы семейств WRKY, HD-ZIP и bZIP, а также гена, кодирующего пептид CLE, существенно подавляла СЭ (снижалось среднее количество соматических эмбрионов на каллус). Мы предположили, что потеря функции выявленных ингибиторов сделает возможным развитие соматических эмбрионов. Были сконструированы векторы для нокаута этих генов с помощью системы CRISPR/Cas9, однако трансформированные полученными конструкциями каллусы неэмбриогенной линии люцерны не образовывали эмбрионы. В настоящее время нами ведется отработка протоколов для подавления экспрессии генов интереса у люцерны с помощью вирус-индуцируемого сайленсинга генов (VIGS). Помимо этого, с помощью системы CRISPR/Cas9 на основе эмбриогенной линии люцерны были получены линии растений с потерей функции одного из выявленных ингибиторов СЭ из семейства CLE. Был проведен анализ транскриптома листовых эксплантов таких растений.
Выводы: Обнаружено несколько генов-ингибиторов СЭ у *M. truncatula*. Изучается возможность индукции СЭ с помощью их выключения или подавления их экспрессии.
Финансирование: Исследование поддержано проектом научно-технологического университета «Сириус»: PBB-RND-2243.

doi 10.18699/PlantGen-2025-118

Биотехнологические приемы поддержания коллекции *Chrysanthemum* × *morifolium* Ramat. *in vitro*

Н.В. Корзина*, Н.Н. Иванова, Н.Н. Лесникова-Седошенко, И.В. Жданова, С.В. Челомбит, Н.В. Смыкова
ФГБУН «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН», Ялта, Россия
** natali.korz@yandex.ru*

Цель: Разработка эффективных биотехнологических методов для размножения и сохранения ценных сортов и новых селекционные форм хризантемы садовой.

Материалы и методы: В качестве первичных эксплантов использовали верхушки побегов крупноцветковой и мелкоцветковой хризантемы садовой (*Chrysanthemum* × *morifolium* Ramat.) 23 сортов и селекционных форм из коллекции НБС-ННЦ: Валентина Терешкова, Египтянка, Краски Осени, Мокрое Серебро, Предрассветный Аю-Даг, Пурпуровая Луна, Розовый Фламинго, Чародейка, Эльдорадо, Эрмитаж, Эстет, Biogudi Purple, Biogudi Red, Discovery, Excell, Kiko, Madame Bernar d'Soi, Nary, Natasha, Rezume Sten Dark, Sheer Purple, William Seward, Ziveno. Стерильные меристемы культивировали на среде Мурасиге и Скуга (МС), дополненной кинетином или 6-бензиламинопурином (6-БАП) в различных концентрациях и 0,25 мг/л α-нафтилуксусной кислоты (НУК). Питательные среды содержали 30,0 г/л сахарозы и 9,0 г/л агара. Укоренение микропобегов осуществляли на среде $^1/_2$ МС, дополненной ауксинами: 0,5 мг/л НУК; 0,5 мг/л индолил-3-уксусной кислотой (ИУК); 0,5 мг/л НУК + 0,5 мг/л ИУК. Для депонирования использовали верхушки микропобегов растений, культивируемых *in vitro* в течение 6 месяцев. У эксплантов длиной 1,5 см удаляли листья и помещали на среду $^1/_4$ МС, дополненную хлорхолинхлоридом (ССС) 0,4–0,6 г/л и 60 г/л сахарозы и 9 г/л агар-агара. Контроль – среда $^1/_4$ МС, дополненная 60 г/л сахарозы. Депонирование *in vitro* осуществляли при температуре 4 ± 1 °С и интенсивности освещения 1,25 мкМ $м^{-2}$ $с^{-1}$.

Результаты: Проведенными исследованиями показано влияние генотипа, регуляторов роста в питательной среде на морфогенез *in vitro* сортов хризантемы садовой. На всех этапах микроразмножения четко прослеживались сортовые различия. Оптимальная концентрация кинетина в среде МС для индукции множественного адвентивного побегообразования составила 0,5–1,5 мг/л. Через 30 сут культивирования получено, в среднем, по сортам 4.90 ± 0,53 – 11,56 ± 2,20 дополнительных микропобегов/эксплант. Отдельным важным этапом клонального микроразмножения является создание медленнорастущей коллекции для длительного хранения ценного генетического материала. Скрининг депонируемых в течение 12 месяцев микропобегов показал, что при концентрации ССС 0,4–0,6 г/л и сахарозы 60 г/л количество жизнеспособных микропобегов хризантемы садовой изучаемых сортов находилось в пределах 91–96%. С увеличением концентрации ССС от 0,4 до 0,6 г/л наблюдали замедление роста эксплантов в 2 раза по сравнению с контролем. Одновременно отмечали образование одного–двух укороченных адвентивных микропобегов. На протяжении 12 месяцев сохранения при температуре 4±1 °С и интенсивности освещения 1,25 мкМ $м^{-2}$ $с^{-1}$ формирования каллуса в базальной части микропобегов отмечено не было, что весьма важно для исключения самоклональной изменчивости и сохранения генетической стабильности при длительном депонировании *in vitro*. Активное корнеобразование наблюдали у побегов хризантемы садовой на среде ½ МС + 0,5 мг/л НУК. В среднем получено 7,54 ± 0,43 – 1,0 ± 0,37 корней/побег длиной до 4,72 ± 0,16 см. В вариантах опыта с 0,5 мг/л ИУК или 0,5 мг/л ИУК + 0,5 мг/л НУК количество укорененных побегов было значительно меньше. Выявлено, что у исследуемых сортов, наряду с формированием главного корня, происходило активное развитие боковых корней, что имело большое значение при дальнейшей адаптации растений к условиям *ex vitro.* Полученные регенеранты имели хорошую облиственность, что обеспечило высокую жизнеспособность хризантемы садовой после пересадки в нестерильные условия выращивания.

Выводы: Исследования показали эффективность разработанных нами приемов клонального микроразмножения и депонирования в условиях *in vitro* ценных генотипов хризантемы садовой.

Финансирование: Исследование поддержано госзаданием FNNS-2025-0003 ФГБУН «НБС-ННЦ» на оборудовании Уникальной научной установки «ФИТОБИОГЕН» (Ялта, Россия).

doi 10.18699/PlantGen-2025-119

Изучение коллекции твердой пшеницы НЦЗ им. П.П. Лукьяненко по аллельным вариантам генов, оказывающих влияние на хозяйственно ценные признаки

В.А. Коробкова[1]*, А.С. Яновский[2], А.Ю. Крупина[1], А.С. Ермолаев[1], П.Ю. Крупин[1], М.А. Самарина[1], Л.А. Беспалова[2], А.В. Архипов[1], Д.С. Ульянов[1], А.А. Мудрова[2], М.Г. Дивашук[1]

[1] *Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия*

[2] *Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко, Краснодар, Россия*

* *bowlingistka@gmail.com*

Цель: Изучение коллекции твердой пшеницы с помощью современных методов молекулярной биологии для выявления генов и их аллельных вариантов, оказывающих влияние на хозяйственно ценные признаки.

Материалы и методы: Была изучена коллекция озимой и яровой твердой пшеницы из 393 сортов и перспективных селекционных линий, собранная в Национальном центре зерна им. П.П. Лукьяненко, с помощью методов молекулярной биологии, в том числе KASP и GWAS-анализ, SDS-PAGE.

Результаты: По результатам исследований на аллельные варианты гена *Zds-A1* нами выявлено, что преобладающее большинство образцов несут аллель *Zds-A1b*: 90% сортов озимого коллекционного питомника, 88% яровых образцов и 71% озимых линий КСИ. В условиях Краснодарского края на индекс желтизны в зерне и крупке у озимых образов коллекционного питомника и КСИ в основном оказывал положительный эффект аллель *Zds-A1a*. У яровых образцов твердой пшеницы был выявлен положительный эффект аллеля *Zds-A1b* на индекс желтизны в зерне, в то время как индекс желтизны в крупке у образцов с этим аллелем был достоверно ниже.

Нами было выявлено отсутствие 1RS.1BL и 1RS.1AL у всех изученных коллекционных образцов яровой и озимой твердой пшеницы. Отсутствие 1RS наблюдалось у всех образцов вне зависимости от этапа селекционного процесса, в том числе у дополнительно проанализированных 144 озимых линий селекционного питомника, полученных путем скрещиваний (*T. aestivum* (+1RS.1BL) × *T. durum*) × *T. durum*.

Единственным геном короткостебельности у твердой пшеницы является *RhtB1b*. Встречаемость *Rht-B1b* составляет 68% среди сортов яровой твердой пшеницы, 98% – среди сортов озимой твердой пшеницы и 98,5% – среди линий озимой твердой пшеницы из питомника конкурсного сортоиспытания.

С помощью SDS-PAGE анализа и ПЦР-маркеров было выявлено, что среди сортов яровой твердой пшеницы наиболее часто встречаются аллели *Glu-A1c* (97%), *Glu-B1al* (55%), *Glu-B1d* (18,8%) и *Glu-B1e* (13%), среди сортов озимой твердой пшеницы наиболее часто встречаются аллели *Glu-A1c* (82,9%), *Glu-B1b* (53,9%), *GluB1al* (17,1%) и *Glu-B1e* (14,5%), среди линий КСИ озимой твердой пшеницы наиболее часто встречаются аллели *Glu-A1c* (98,0%), *Glu-B1al* (59,6%), *Glu-B1d* (17,2%) и *Glu-B1e* (12,1%). Нами впервые выявлен аллель *Glu-B1z**, встречающийся у 5% образцов питомника КСИ озимой твердой пшеницы и у 7,2% сортов яровой твердой пшеницы. На содержание белка и клейковины у сортов озимой твердой пшеницы положительное влияние оказывают аллели *Glu-A1a*, *Glu-B1al* и *Glu-B1f*, в то время как у сортов яровой твердой пшеницы повышенное содержания белка ассоциировано с наличием аллелей *Glu-B1al*, *Glu-B1e*, *Glu-B1z*.

На основе анализа SNP AX-94403238 на хромосоме 4B, ассоциированного с содержанием белка в зерне, был найден ген-кандидат *Sat2*. Секвенирование гена-кандидата *Sat2* у пяти образцов твердой пшеницы, контрастных по содержанию белка, выявило 23–29 однонуклеотидных полиморфизмов (SNP). На SNP в первом интроне был разработан KASP-маркер, с помощью которого на коллекции из 193 образцов показано влияние аллельного состояния *Sat2* на содержание белка в зерне яровой твердой пшеницы.

Выводы: В результате наших исследований мы выявили структуру коллекции по аллельным вариантам генов, оказывающим влияние на хозяйственно ценные признаки твердой пшеницы, определили генотипы, обладающие ценными аллелями. Применение современных систем молекулярных маркеров, в том числе KASP-маркеров и маркеров на основе GWAS, а также биоинформатические подходы в селекции твердой пшеницы открывают новые возможности и перспективы в изучении аллельных состояний ценных генов, а также в поиске новых генов и их аллелей, ассоциированных с высокими показателями качества, адаптивности и продуктивности твердых сортов пшеницы.

Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ № 24-16-00274, https://rscf.ru/project/24-16-00274/.

doi 10.18699/PlantGen-2025-120

Профили экспрессии генов транскрипционных факторов подсемейства DREB2 в динамике солевого стресса и послестрессового восстановления растений томата

Е.З. Кочиева*, М.А. Филюшин, А.В. Щенникова
Институт биоинженерии им. К.Г. Скрябина, ФИЦ «Биотехнологии» Российской академии наук, Москва, Россия
** ekochieva@yandex.ru*

Цель: Профилирование экспрессии генов транскрипционных факторов подсемейства DBEB2 в растениях томата в динамике солевого стресса и длительного послестрессового восстановления для выявления потенциальных маркеров стрессовой памяти,

Материалы и методы: В этом исследовании использовали растения двух сортов томата (*Solanum lycopersicum* L.), высоко (Отрадный) и средне (Гном) устойчивых к солевому стрессу. Растения выращивали в условиях теплицы (16 ч/8 ч, 23 °C/21 °C – день/ночь) до стадии формирования 6–7 листьев. Далее проводили симуляцию солевого стресса, для чего растения переносили из почвы в жидкую питательную среду MS, предварительно отмыв корни. Через 1 ч опытные образцы помещали в среду MS, содержащую 100 мМ NaCl; контрольные растения – параллельно выдерживали в среде MS без соли. Спустя 24 ч, опытные растения возвращали в среду MS и оставляли на две недели параллельно с контролем. Листовые пробы (все листья с одного растения; два биологических повтора) отбирали в следующих временных точках: ‘24’ (24 ч стрессового воздействия) и ‘24k’ (контроль); ‘7’ и ‘7k’ (неделя восстановительного периода); ‘14’ и ‘14k’ (две недели восстановления). Из каждой пробы была выделена суммарная РНК и синтезирована кДНК, которую использовали для анализа экспрессии целевых генов с помощью количественной ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ).

Результаты: В листьях двух солеустойчивых сортов томата, подвергнутых солевому стрессу, была определена динамика (*vs.* контроль) экспрессии генов транскрипционных факторов подсемейства DREB2, связанных с механизмами регуляции устойчивости к осмотическим стрессам. Измерения, проведенные в точках ‘24’/‘24k’, ‘7’/‘7k’ и ‘14’/‘14k’, показали, что профиль экспрессии каждого из шести анализируемых генов носит генотип-зависимый характер. На примере генов *SlDREB2* было выявлено, что в точке ‘24’ (*vs.* ‘24k’) у сорта Отрадный экспрессия генов снизилась (*SlDREB16*, *SlDREB46*), повысилась (*SlDREB43*) или почти не изменилась (*SlDREB22*, *SlDREB24*, *SlDREB44*); у сорта Гном при этом снизилась экспрессия генов *SlDREB22* и *SlDREB46*, повысилась *SlDREB43* и *SlDREB44* и не менялась *SlDREB16* и *SlDREB24*. То есть сходство между двумя сортами составила стрессовая реакция *SlDREB24*, *SlDREB43* и *SlDREB46*. В период восстановления динамика экспрессии генов либо различалась между сортами (*SlDREB16*, *SlDREB43* и *SlDREB44*), либо была сходной (*SlDREB22*, *SlDREB24* и *SlDREB46*). В целом, два гена из шести проанализированных в группе *SlDREB2* (*SlDREB24* и *SlDREB46*) показали сходный ответ на стресс и сходные направления колебаний при восстановлении у двух в разной степени солеустойчивых сортов. Однако амплитуда колебаний различалась. К примеру, в точке ‘7’ (*vs.* ‘7k’) уровень экспрессии *SlDREB24* увеличился в ~7 раз у сорта Отрадный и только в ~1.5 раза у сорта Гном. В точке ‘14’ (*vs.* ‘14k’) уровень экспрессии *SlDREB24* снизился в ~2 раза (*vs.* ‘7’) у сорта Отрадный, сохранив при этом значение в ~3 раза более высокое (*vs.* ‘7k’), тогда как у сорта Гном он уменьшился в ~3 раза (*vs.* ‘7’), став ниже контрольного значения в ~2.5 раза. С точки зрения поиска генов, которые могут служить маркерами стрессовой памяти растений, в группе *SlDREB2* наиболее перспективными оказались три гена с разной у двух солеустойчивых генотипов томата и, одновременно, с наиболее резкой реакцией на стресс или восстановительный период. Это ген *SlDREB16*, экспрессия которого в точке ‘7’ (*vs.* ‘7k’) увеличилась в ~12 раз у сорта Отрадный и, напротив, снизилась у сорта Гном. Второй ген – *SlDREB22*, экспрессия которого в точках ‘24’ и ‘7’ резко снизилась только у сорта Гном, а в точке ‘14’ (*vs.* ‘14k’) значительно увеличилась у обоих сортов. И третий ген – *SlDREB44*, экспрессия которого повысилась в точке ‘24’ (*vs.* ‘24k’) в ~50 раз у сорта Гном и в точке ‘7’ (*vs.* ‘7k’) – в ~11 раз у сорта Отрадный.

Выводы: Проведено сравнение экспрессии генов транскрипционных факторов подсемейства DBEB2 в динамике ответа на стресс и длительного восстановления в листьях растений двух сортов томата с разной степенью солеустойчивости. Показана генотип-специфичность экспрессии всех проанализированных генов с присутствием межсортового сходства в стрессовой реакции или послестрессовых направлениях колебаний экспрессии. Выявлены гены с наиболее сходной и с различающейся между сортами динамикой ответа на стресс и восстановление. Определены гены, перспективные как мишени в дальнейших исследованиях возможных маркеров стрессовой памяти.

Финансирование: Исследование поддержано РНФ (грант № 24-16-00043) и Министерством науки и высшего образования Российской Федерации.

doi 10.18699/PlantGen-2025-121

Набор SSR-маркеров для использования в маркер-опосредованной селекции капусты белокочанной (*Brassica oleracea* var. *capitata*)

П.Ю. Крупин*, А.Г. Черноок, С.А. Бурсаков, М.В. Климушина, М.А. Самарина, С.М. Авдеев, М.Г. Дивашук

Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия
** pavel-krupin@yandex.ru*

Цель: Сформировать набор SSR маркеров, пригодных для применения в маркер-опосредованной селекции, оценки уровня гибридности и паспортизации капусты белокочанной.

Материалы и методы: В работе использовались 47 гибридов капусты белокочанной и 5 перспективных селекционных образцов, относящихся к разным группам спелости: 19 средне-поздних, 1 средних, 27 поздних. Семена проращивались в чашках Петри при +20 °C, предварительно проводили обработку семян в растворе фитоспорина 1 час. Проведена оптимизация массового выделения ДНК капусты белокочанной, подобраны оптимальные количества растительной ткани и реагентов для выделения. ДНК выделяли из проростков на 10-е сутки после посева семян при помощи роботизированной станции выделения ДНК Auto-Pure 96 и набора «МагноПрайм® ГМО». Проростки измельчали при помощи металлических шариков диаметром 3 мм на гомогенизаторе TissueLyser II. Качество выделенной ДНК определяли при помощи спектрофотомерии на приборе Nano Drop One C. Проведена работа с литературой и собраны данные о существующих на данный момент микросателлитных маркерах капусты белокочанной, создана актуальная база данных маркеров, всего в базу вошло 182 SSR маркера.

Результаты: Проведена оптимизация протокола массового выделения ДНК капусты белокочанной для роботизированной станции. Полученная высокомолекулярная ДНК капусты белокочанной 52 образцов имеет высокие показатели качества и концентрации, и является пригодной для генетических анализов с помощью рутинной ПЦР для генотипирования с помощью классических маркеров, количественной ПЦР в реальном времени для генотипирования с помощью KASP-маркеров, фрагментного анализа с использованием SSR-маркеров и секвенирования. По литературным данным, выбранные нами микросателлитные маркеры были сцеплены с одиннадцатью хозяйственно ценными признаками капусты белокочанной. Из всего массива маркеров 34% сцеплены с устойчивостью к инфекционным болезням, 3% – с устойчивостью к вредителям, по 6% – с товарными признаками и мужской стерильностью (ЦМС), 20% составили маркеры для оценки генетического разнообразия и 28% – маркеры для оценки комбинационной способности. С помощью биоинформатических подходов проводится анализ набора молекулярных маркеров для выбора оптимального-минимального количества SSR маркеров, необходимых для определения уровня гибридности гетерозисных гибридов F_1 и пригодных для паспортизации у этой культуры.

Выводы: Систематизированы данные о маркерах, которые можно применять в маркер-опосредованной селекции капусты белокочанной на значимые хозяйственно ценные признаки, для оценки уровня гибридности при создании гетерозисных гибридов и паспортизации для защиты авторских прав селекционеров и повышения качества семеноводства. Общий объем собранных SSR и других систем маркеров капусты белокочанной составляет 304 генетических маркера.

Финансирование: Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, государственное задание FGUM-2024-0006.

doi 10.18699/PlantGen-2025-122

Влияние увеличенной дозы фосфорного питания на онтогенез сахарной свёклы при выращивании в условиях закрытого грунта методом speed breeding

А.Ю. Крупина, П.Ю. Крупин*, М.Н. Полякова, М. Алкубеси, А.А. Ульянова, М.Г. Дивашук
Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Россия, Москва
**pavel-krupin@yandex.ru*

Цель: Изучить влияние увеличенной дозы фосфорного питания на онтогенез и стрессоустойчивость сахарной свёклы для создания условий оптимального минерального питания при выращивании в условиях закрытого грунта методом ускоренной селекции (speed breeding) в условиях яровизации и без яровизации.

Материалы и методы: Эксперимент включал два опыта: первый – по получению генеративного побега без образования корнеплода, второй – по получению мини-штеклингов (миниатюрных корнеплодов). В первом опыте растения подвергались воздействию яровизации и длинного светового дня для стимуляции цветения при следующих условиях: яровизация (первые 12 недель) – день 22 ч, +6 °C /ночь 2 ч, +5 °C; послеяровизационный период – день 22 ч, +23 °C / ночь 2 ч, +20 °C. Через три дня после окончания яровизации растения еженедельно подкармливали либо раствором Кнопа (контроль, 0,25 г/л KH_2PO_4), либо раствором Кнопа с повышенной концентрацией фосфатов (40,25 г/л KH_2PO_4). Во втором опыте растения выращивались при следующих условиях: день 22 ч, +25 °C / ночь 2 ч, +20 °C. Начиная с 34-го дня жизни растения еженедельно подкармливали либо раствором Кнопа (контроль, 0,25 г/л KH_2PO_4), либо раствором Кнопа с повышенной концентрацией фосфатов (40,25 г/л KH_2PO_4). Во втором опыте на 90-й день в каждом из вариантов минерального питания (контроль и дополнительное фосфорное питание) проводилась оценка реакции растений на засуху (нормальный полив – контроль; засуха – отсутствие полива в течение 21 дня до потери листьями тургора) и заморозки (оптимальная температура – контроль; заморозки – экспозиция при –1 °C в течение 5 часов). В первом и во втором опытах проводилось регулярное цифровое фенотипирование с помощью прибора TraitFinder (Phenospex, Нидерланды) по признакам цифровой биомассы, нормализованного вегетационного индекса (NDVI) и индекса старения (PSRI).

Результаты: Согласно результатам наблюдений в первом опыте (с яровизацией) у растений, выращенных с усиленным фосфорным питанием, бутонизация наступала на 8 дней раньше по сравнению с контролем, при этом на 153-й день выращивания семена завязались у 58% в группе в усиленными фосфорными питанием и у 42% в контрольной группе. По результатам второго опыта (без яровизации) установлено, что растения, выращенные при увеличенной дозе фосфорного питания, на 90 день жизни по сравнению с контрольными растениями имели цифровую биомассу в среднем больше на 19%, NDVI больше на 17%, а PSRI меньше на 18%. У контрольных растений листья засыхали и отмирали после второй недели опыта с засухой, а у растений, выращенных при увеличенной дозе фосфорного питания, сохранялись до конца эксперимента. Через одну неделю после засухи у контрольных растений цифровая масса и NDVI снизились относительно значений до стресса на 47 и 10%, а PSRI увеличился на 9%; аналогичные показатели для растений, выращенных при увеличенной дозе фосфорного питания, составили соответственно 27, 7 и 5%. На вторую неделю после заморозков у контрольных растений цифровая биомасса и NDVI по сравнению с измерением до заморозков снизилась соответственно на 28 и 9%, в то время как у растений, выращенных при увеличенной дозе фосфорного питания, цифровая масса снизилась на 41%, а NDVI вырос на 2%. При этом контрольные растения на вторую-третью неделю сбрасывали листья, а растения, выращенные при увеличенной дозе фосфорного питания, продолжали вегетацию вплоть до пятой недели наблюдений: их цифровая масса снизилась на 69% относительно значений до заморозков, однако NDVI вырос на 13%, а PSRI снизился на 44%, что свидетельствует об усиленных процессах регенерации растений после стресса. Мини-штеклинги, полученные при повышенном фосфорном питании, имели массу в среднем на 7,5 г (55%) больше по сравнению с контролем.

Выводы: Полученные результаты демонстрируют важность фосфорного питания для выращивания растений в нетипичных для них условиях закрытого грунта. Дополнительное фосфорное питание позволяет растениям сахарной свёклы после яровизации раньше приступать к цветению, а при выращивании без яровизации – успешнее справляться с последствиями заморозков и засухи и формировать более крупные мини-штеклинги. Полученные результаты могут использоваться при разработке технологии выращивания сахарной свёклы методом speed breeding в части минерального питания для ускорения селекции новых сортов и гибридов этой стратегически важной сельскохозяйственной культуры.

Финансирование: Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, государственное задание FGUM-2023-0002.

doi 10.18699/PlantGen-2025-123

Поиск источников генетической устойчивости к вирусу обыкновенной мозаики (Bean common mosaic virus, BCMV) среди селекционных образцов фасоли овощной (*Phaseolus vulgaris* L.)

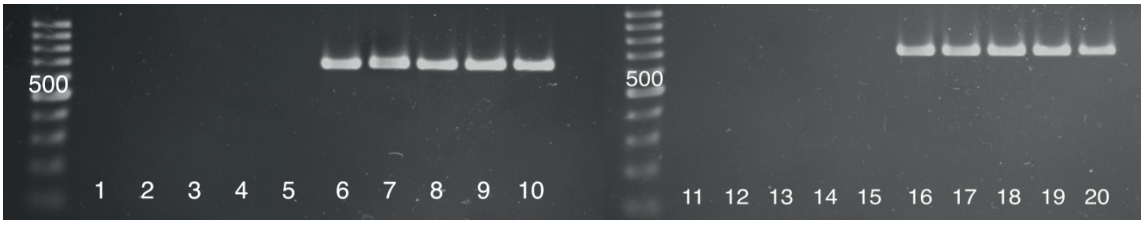
Е.С. Крупинская*, А.С. Домблидес, И.А. Енгалычева, А.А. Антошкин
ФГБНУ Федеральный научный центр овощеводства, Московская обл., Одинцовский р-н, пос. ВНИИССОК, Россия
**katekrupp@yandex.ru*

Вирус обыкновенной мозаики фасоли (*Bean common mosaic virus*, BCMV) и вирус обыкновенной некротической мозаики фасоли (*Bean common mosaic necrosis virus*, BCMNV) в последнее время становятся одними из основных возбудителей заболеваний овощных культур в Нечерноземной зоне России. Поиск генетических источников устойчивости к вирусу является крайнем важным условием для проведения дальнейшей селекционной программы по фасоли овощной (*Phaseolus vulgaris* L.). Высокая степень устойчивости к двум вирусам достигается присутствием гена *I* и ряда рецессивных генов (*bc-1*, *bc-1²*, *bc-2*, *bc-2²* *bc-3*, *bc-u*). Поскольку механизм действия генов устойчивости различный, а ген *I* рассматривается как определяющий, сочетание доминантных и рецессивных генов дает различный иммунный ответ при воздействии вирусов. Разработка ДНК-маркеров значительно упрощают отбор селекционных генотипов с различными вариантами генов устойчивости. Выявление основных генов устойчивости позволяет прослеживать, сохранять их в поколениях и проводить селекцию на получение генотипа с наилучшим сочетанием доминантных и рецессивных аллелей.

Цель: Выявление основных генов устойчивости у перспективных селекционных образцов фасоли овощной с использованием генетического анализа к BCMV и BCMNV.

Материалы и методы: Для исследований было отобрано 20 индивидуальных растений (по 5 растений каждого сорта), принадлежащих к четырем генотипам – Хавская, Моментум, Пиканта, Изумрудная. Для экстракции ДНК использовали ткань молодых листочков каждого растения. Секвенирование продуктов амплификации проводили по методу Сэнгера в Межинститутском центре коллективного использования «Геном» (Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта).

Результаты: По результатам ПЦР-анализа все 20 образцов содержали различные гены устойчивости к вирусу обыкновенной мозаики фасоли. Амплификация образцов с маркером SW13, связанным с доминантным геном *I*, дала положительные результаты с сортами Моментум и Изумрудная. Размер полученного ПЦР-продукта, а также секвенированных последовательностей составил 690 п.н. (рисунок). Маркеры на рецессивные гены устойчивости (SBD5 – ген *bc-1²*, SG6 и ROC11– *bc-3*) показали наличие данных генов у всех исследуемых образцов. Размеры продуктов составили 1300 п.н. для SBD5, 680 п.н. для SG6, 300 п.н. для ROC11. Секвенирование по методу Сэнгера в сочетании с анализом базы данных GenBank позволило установить принадлежность исследуемых последовательностей с высоким сходством к маркеру SW13 гена *I*. Сходство образцов с референсной последовательностью из базы данных (AY508120.1) составило 98–99%.



Электрофореграммы ПЦР-продуктов, полученных при амплификации фрагмента гена *I* (690 п.н.) у четырех генотипов фасоли овощной: 1–5 – генотип Хавская, 6–10 – генотип Моментум, 11–15 – генотип Пиканта, 16–20 – генотип Изумрудная. Маркер длин ДНК 100+ bp (Евроген)

Выводы: Анализ образцов фасоли показал, что рецессивные гены устойчивости к BCMV (штамм-специфические гены *bc-1²* и *bc*-3) присутствуют у всех представителей четырех генотипов. Растения двух генотипов также содержали подтвержденный доминантный ген *I*. Таким образом, для исследуемых образцов характерны генотипы *I/bc-1²/bc-3* и *bc-1²/bc-3*. Присутствие доминантного гена *I* и рецессивной аллели гена *bc-3* обеспечивает широкий спектр неспецифической устойчивости к вирусу.

Финансирование: Исследование проведено в рамках государственного задания № FGGF-2024-0016.

doi 10.18699/PlantGen-2025-124

Генетический анализ гибридных популяций тетраплоидных видов пшеницы

Ю.В. Кручинина
Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
kruchinina2023@yandex.ru

В современной селекционной и генетической практике немаловажное значение имеет наличие как можно большей информации по используемому в работе материалу. Описание конкретных таксонов злаковых трудоемкая задача. Существует несколько методов, позволяющих изучать генетику и таксономию растений и одним из популярных методов является гибридологический. Он позволяет понять, как фенотипические признаки, характерные для видоспецифических генов наследуются у конкретных видов пшеницы.

Цель: Изучить расщепление гибридной популяции F_2 тетраплоидной пшеницы (*Triticum aethiopicum* и *T. carthlicum*) по видоспецифическим признакам.

Материалы и методы: Объектом изучения послужили межвидовые гибриды пшениц от скрещивания тетраплоидных видов ♀*T. aethiopicum* (к-19301/2) × ♂*T. carthlicum* (к-32496). Эксперимент проведен в яровом посеве, в парниках селекционно-генетического комплекса (СГК) Института цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск. F_1 гибридов размножали в теплице, F_2 гибридов в количестве до 200 зерен в каждой комбинации высевали в парниках. Суммарное число изученных гибридов равнялось 185 растениям. Гибридологический анализ использовали для идентификации генотипов по видоспецифическим признакам. Ввиду того что большинство этих признаков контролируются по моногенному типу и имеют четкое фенотипическое проявление. При его проведении изучали расщепление F_2 гибридов. Соответствие полученных результатов теоретически ожидаемым оценивается с использованием критерия Пирсона χ^2.

Результаты: Каждое растение F_2 гибридов было описано по видоспецифическим признакам, а именно: «наличие/отсутствие тетраостости» (наличие остей и на цветковых, и на колосковых чешуях), «окраски колоса», «опушения колосковой чешуи», «плешки», а также «тип остей». Родительские формы имеют следующие характеристики:

♀*T. aethiopicum* (к-19301/2) – отсутствие тетраостости, колос не окрашен, ости направлены в сторону, отсутствие опушения колосковой чешуи и плешки на колосковой чешуе;

♂*T. carthlicum* (к-32496) – наличие тетраостости, колос окрашен, ости направлены вверх, наличие опушения колосковой чешуи и плешки на колосковой чешуе.

Для каждого признака было подсчитано значение χ^2 на достоверность расщепления по гипотезам: 3:1, 13:3, 15:1. По признакам «наличие/отсутствие тетраостости» и по «характеру остистости» достоверно были получены результаты, соответствующие гипотезе наследования 3:1, а именно: $\chi^2 = 2.549$ и 0.047 соответственно, $p<0.05$. При анализе признака «окраска колоса», достоверно были получены результаты, соответствующие гипотезе наследования 13:3 (дигенный эпистаз), а именно: $\chi^2 = 0.689$, $p<0.05$. Для признаков «наличие/отсутствие опушения колосковой чешуи» и «наличие/отсутствие плешки на колосковой чешуе», достоверных результатов наследования по Менделю не получено.

Выводы: Показано, что по ряду видоспецифических признаков («тетраостость», «тип остистости», «окраска колоса») получены достоверные результаты расщепления в F_2 гибридной популяции тетраплоидной пшеницы. Помимо гибридологического метода, планируется обработать результаты биоинформатическими методами. Следующим этапом работы будет анализ цифровых изображений растений данной гибридной популяции с целью проанализировать расщепления по ряду признаков, которые будут выявлены машинным зрением и дальнейшим сравнением результатов приведенного выше анализа с результатами высокопроизводительного фенотипирования.

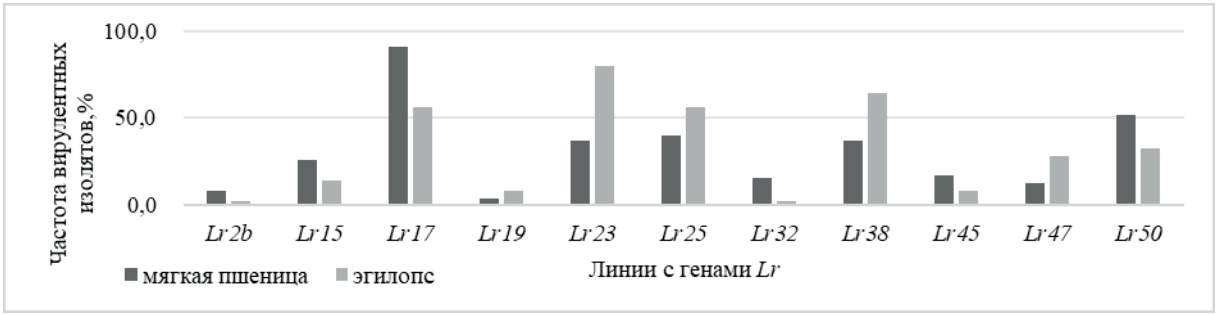
Финансирование: Исследование поддержано РНФ, № 23-14-00150.

doi 10.18699/PlantGen-2025-125

Вирулентность популяции *Puccinia triticina*, собранной на озимой мягкой пшенице и эгилопсе в условиях юга России

О.А. Кудинова*, В.Д. Руденко, О.Ф. Ваганова, Г.В. Волкова
Федеральный научный центр биологической защиты растений, Краснодар, Россия
** alosa@list.ru*

Цель: Проанализировать вирулентность популяций *P. triticina*, полученных с эгилопса и мягкой пшеницы в различных агроклиматических зонах юга России.
Материалы и методы: Листья пшеницы, пораженные бурой ржавчиной, были собраны в ходе маршрутных обследований производственных посевов зерновых культур в 2022 и 2023 гг. с озимой мягкой пшеницы и эгилопса (*Aegilops sp*., сорные посевы на обочине пшеничных полей) в различных агроклиматических зонах юга России на естественном инфекционном фоне. Исследования проводили в тепличном комплексе ФГБНУ ФНЦБЗР с использованием УНУ «Фитотрон для выделения, идентификации, изучения и поддержания рас, штаммов, фенотипов патогенов» (https://fncbzr.ru/brk-i-unu/unique-installation-2/). Для изучения вирулентности популяций *P. triticina* были использованы 43 близкоизогенные линии Thatcher с известными генами устойчивости *Lr*. Тип реакции Lr-линий на поражение бурой ржавчиной оценивали по шкале Mains и Jackson. Разнообразие популяций по частотам вирулентности оценивали по индексу Нея (Hs). Различия между популяциями характеризовали с помощью индекса Нея (N).
Результаты: Всего выделено и продифференцировано 50 монопустульных изолятов популяции *P. triticina,* полученной с эгилопса, и 66 изолятов популяции гриба, собранных на посевах мягкой пшеницы. Степень поражения собранных образцов эгилопса в полевых условиях составила 80–100%. Посевы озимой мягкой пшеницы в местах сбора были поражены бурой ржавчиной от 10 до 40%. Большинство изолятов обеих популяций были вирулентны к линиям с генами: *Lr1, Lr2c, Lr3, Lr16, Lr26, Lr3ka, Lr11, Lr30, Lr10, Lr33, Lr34, Lr40, LrKanr* (частота вирулентных изолятов составила от 62,1 до 91,4%). Линии с генами *Lr2a, Lr9, Lr19, Lr24, Lr29, Lr41, Lr42, Lr43, LrW* оставались устойчивыми для изолятов обеих популяций (частота вирулентных изолятов не превышала 6,1%). Различия популяций по частоте вирулентных изолятов гриба, поражающих линии с генами *Lr*, показаны на рисунке.



Частота вирулентных изолятов в популяциях *P. triticina*, полученных с мягкой пшеницы и эгилопса, к линиям-носителям генов *Lr* (ФНЦБЗР, фитотронно-тепличный комплекс, 2022–2023 гг.

В популяции *P. triticina*, полученной с эгилопса, установлено увеличение вирулентных изолятов, поражающих линии с генами: *Lr19, Lr23, Lr25, Lr38, Lr47.* В популяции гриба, полученной с мягкой пшеницы, преобладают изоляты, вирулентные к линиям с генами *Lr: Lr2b, Lr15, Lr32, Lr45, Lr50.* Отмечено повышение числа вирулентных изолятов фитопатогена в популяции, полученной с эгилопса, к линиям с эффективными генами *Lr19, Lr24, Lr47*. В целом, популяция, полученная с эгилопса, является более вирулентной (средняя вирулентность популяций с мягкой пшеницы и эгилопса составила соответственно 42,3 и 44,5%). Разнообразие популяций гриба с эгилопса и мягкой пшеницы по частотам генов вирулентности по индексу Нея (Hs) составило 0,27 и 0,31 у.е. соответственно. Различие между популяциями по индексу Нея (N) составило 0,03 у.е.
Выводы: Установлено, что популяция гриба, полученная с листьев эгилопса, более вирулентна и менее разнообразна. Зафиксировано повышение числа изолятов *P. triticina*, вирулентных к линиям с эффективными генами *Lr19, Lr23, Lr25, Lr38, Lr47.* Но в целом обе популяции не имеют различий по индексу Нея (N), что еще раз подтверждает вывод, сделанный другими исследователями (Гультява и др., 2017), о том, что дикие злаки являются резерваторами инфекции бурой ржавчины.
Финансирование: Исследования выполнены согласно государственному заданию Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках НИР по теме № FGRN-2025-0002.

doi 10.18699/PlantGen-2025-126

Метод приготовления препаратов пахитенных хромосом видов с крупным геномом для иммунолокализации мейотических белков

Н.А. Кудрявцева[1]*, А.С. Ермолаев[1], Л.И. Хрусталева[1, 2]
[1] *Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, 127550, Россия*
[2] *Центр молекулярной биотехнологии, Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва, 127550, Россия*
** natalia.kudryavtseva92@gmail.com*

Цель: Современные методы молекулярной цитогенетики, такие как гибридизация *in situ* (ISH) и иммунолокализация, требуют препаратов хромосом с минимальным перекрытием для точного анализа. Однако мейотические хромосомы, которые в 7–40 раз длиннее митотических, создают сложности: их большие размеры приводят к образованию спутанных структур («клубков») на препаратах. Существующие протоколы приготовления хромосом, разработанные для видов с малыми геномами (например, *Arabidopsis arenosa* – 150 Mb, томат – 900 Mb), не применимы для растений с гигантскими геномами, таких как виды рода *Allium*. У лука-батуна (*Allium fistulosum*) геном достигает 16 000 Mb, а средняя длина синаптонемного комплекса (СК) на стадии пахитены составляет 90 мкм – в 5 раз больше, чем у томата (18 мкм). Эта разница в размерах объясняет, почему стандартные методы неэффективны для лука: длинные хромосомы с большей вероятностью дадут перекрытия в разбросах, что критично для ISH и иммунодетекции белков. Таким образом, виды с крупными геномами требуют разработки специализированных протоколов, учитывающих их уникальные цитогенетические особенности.

Материалы и методы: Разработка протокола приготовления высококачественных препаратов пахитенных хромосом для иммунолокализации проводилась на материнских клетках пыльцы (PMC) *A. fistulosum*. Был проведен сравнительный анализ влияния двух фиксирующих растворов (формальдегида и Кларка) на возможность получения хорошего распределения пахитенных хромосом. Для подтверждения того, что полученные препараты хромосом можно использовать для визуализации мейотических белков, была проведена иммунодетекция ZYP1. Протокол иммунодетекции мейотического белка был описан ранее [1]. Отдельные пахитенные хромосомы с ярким сигналом непрерывных треков ZYP1 были извлечены с помощью плагина Straighten в программном обеспечении ImageJ [2]. Длина SC отдельных хромосом была измерена с помощью программного обеспечения DRAWID [3].

Результаты: Мы разработали протокол, который позволяет получить высококачественные препараты пахитенных хромосом лука-батуна, пригодные для иммунодетекции мейотических белков. Хороший разброс хромосом был достигнут за счет использования фиксатора Кларка и 45% уксусной кислоты при раздавливании материнских клеток пыльцы (PMC). Мы успешно протестировали протокол на PMC *A. fistulosum* для визуализации белка ZYP1 (поперечные филаменты синаптонемного комплекса). На полученных препаратах мы смогли проследить каждую отдельную хромосому *A. fistulosum* от теломеры к теломере. Анализ результатов показал отсутствие значительного растяжения хромосом.

Выводы: В этом исследовании мы представляем протокол для получения хорошо распределенных пахитенных хромосом для видов, обладающих большими геномами и размерами хромосом. Высококачественные хорошо распределенные пахитенные хромосомы, полученные с помощью разработанного протокола, позволяют проследить отдельные хромосомы от теломеры до теломеры, что облегчает цитогенетическое исследование для видов с большими геномами.

Финансирование: Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ проекта № 24-76-10037.

Список литературы

1 Kudryavtseva N., Ermolaev A., Pivovarov A., Simanovsky S., Odintsov S., Khrustaleva L. The Control of the Crossover 230 Localization in Allium. *Int J Mol Sci*. 2023;24:7066
2 Schneider C.A., Rasband W.S., Eliceiri K.W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat Methods*. 2012;9:671-675
3 Kirov I., Khrustaleva L., Van Laere K., Soloviev A., Meeus S., Romanov D., Fesenko I. DRAWID: user-friendly java software 263 for chromosome measurements and idiogram drawing. *Comp Cytogenet*. 2017;11:747

doi 10.18699/PlantGen-2025-127

Изучение влияния митоген активируемой протеинкиназы 6 (MAPK6) на эффективность развития симбиоза у гороха посевного для повышения его продуктивности

П.А. Кулеш[1, 2]*, Е.С. Канцурова[2], А.Д. Бовин[2], Н.В. Козлов[2], Е.А. Долгих[2]
[1] *Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус», федеральная территория «Сириус», Краснодарский край, Россия*
[2] *Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», Пушкин, Санкт-Петербург, Россия*
** polinapolliolog@gmail.com*

Цель: Митоген-активируемые протеинкиназы (MAP-киназы) играют важную роль во многих сигнальных путях. Недавно было установлено, что MAP-киназы участвуют во внутриклеточной передаче сигнала при узнавании бобовыми растениями сигнальных молекул Nod-факторов, выделяемых клубеньковыми бактериями (ризобиями). Ранее было показано, что у лядвенца японского (*Lotus japonicus*) в передачу сигнала вовлечены MAPKK (LjSIP2) и ее субстрат LjMAPK6, а у люцерны усеченной (*Medicago truncatula*) – их гомологи MtMAPKK4 и MtMAPK6**.** Однако у гороха посевного (*Pisum sativum* L.), имеющего важное сельскохозяйственное значение, состав и функциональная роль MAP-киназ в контроле симбиоза оставались малоизученными. Основной целью нашей работы являлись поиск и изучение влияния PsMAPKK4 и PsMAPK6 на развитие симбиоза у гороха посевного (*P. sativum* L.), а также разработка методических подходов для стимуляции активности этого регулятора с помощью сверхэкспрессии кодирующего гена и получения мутаций, мимикрирующих фосфорилирование PsMAPK6 в активном центре.
Материалы и методы: Был проведен анализ генома *Pisum_sativum*_v1a гороха для поиска последовательностей генов *PsMAPKK4* и *PsMAPK6*, а также потенциальных сайтов-мишеней для геномного редактирования гена *PsMAPK6*. Получены композитные растения *P. sativum* L. сорта Cameor со сверхэкспрессией гена *PsMAPK6*, а также с модификацией его первичной последовательности с помощью технологии геномного редактирования CRISPR/Cas9.
Результаты: В данной работе мы провели поиск в геноме гороха с использованием известных последовательностей *M. truncatula MtMAPKK4* и *MtMAPK6* для идентификации соответствующих гомологов. В результате сверхэкспрессии гена *PsMAPK6* у композитных растений наблюдалось увеличение количества клубеньков и биомассы растений, что свидетельствует о вовлеченности этой MAP-киназы в регуляцию симбиоза (Bovin et al., Genetically Modified Legume Plants as a Basis for Studying the Signal Regulation of Symbiosis with Nodule Bacteria, Horticulturae, 2024). Мы предположили, что замена треонина (T) и тирозина (Y) в сайтах фосфорилирования PsMAPK6 на аспарагиновую кислоту (D) может «имитировать» отрицательный заряд фосфатной группы (фосфомимикрия), приводя к появлению конститутивно активного фермента. Был разработан дизайн направляющей РНК и создана генетическая конструкция для первичного редактирования целевого гена с помощью CRISPR/Cas9. Проведен анализ композитных растений на наличие ожидаемых нуклеотидных замен в гене *PsMAPK6*, а также оценена эффективность доставки инструментов редактирования в клетки растений гороха. Кроме того, исследовано влияние сверэкспрессии гена PsMAPK6 с модифицированными мотивами фосфорилирования на эффективность бобово-ризобиального симбиоза и продуктивность гороха.
Выводы: Полученные данные расширяют представления о роли MAP-киназ в регуляции бобово-ризобиального симбиоза и открывают перспективы для направленной регуляции симбиотической азотфиксации у сельскохозяйственных культур.
Финансирование: Исследование поддержано ОНТП задание FGEW-2024-0006.

doi 10.18699/PlantGen-2025-128

Введение в культуру *in vitro* эндемика Центральной Якутии, редкого растения *Thermopsis jacutica* (Czefr.) Schreter

Е.В. Кучарова[1]*, К.С. Федотова[2], Д.Е. Ксенофонтов[1], Ж.М. Охлопкова[1]
[1] *Институт естественных наук, Северо-Восточный федеральный университет, Якутск, Россия*
[2] *МОБУ СОШ № 38 г. Якутска, Якутск, Россия*
* *oleneek@mail.ru*

Цель: Термопсис якутский (*Thermopsis jacutica* (Czefr.) Schreter) – узкоареальный эндемик Центральной Якутии, обладающий высокой экологической и фитоценотической специализацией. Вид внесен в Красную книгу Республики Саха (Якутия) (2017). Актуальность исследования термопсиса якутского обусловлена биоэкологической ценностью вида, фармакологическим потенциалом, и угрозой исчезновения. Целью исследования является разработка технологии получения *in vitro* каллусной культуры клеток *Thermopsis jacutica*.

Материалы и методы: Для введения объекта исследования в культуру *in vitro* использованы семена, собранные в августе 2023 г. во время экспедиции на территории Хангаласского района Республики Саха (Якутия) с растений центрально-якутской популяции в окр. с. Немюгюнцы. Семена после камеральной обработки хранились в холодильнике при температуре 4–6 °С. Поверхностную обработку и стерилизацию семян проводили 2%-м перманганатом калия (15 мин), 5%-м раствором гипохлорита натрия (3 мин), 95%-м этиловым спиртом (1 мин) с последующим трехкратным промыванием стерильной водой после каждого стерилизующего агента. В качестве питательной среды использовали среду Мурасиге-Скуга (МС) с добавлением различных концентраций фитогормонов. Динамику роста биомассы каллусной культуры изучали на основе взвешивания сырой и сухой массы каждые трое суток в течение 30 суток. На основе полученных данных выявляли общий объем сырой и сухой массы с построением кривой роста.

Результаты: Для получения стерильных проростков *Thermopsis jacutica* обработанные и простерилизованные семена по 5 шт. сажали в чашку Петри на МС без гормонов. Культивирование проводили в условиях термостата при 27 °С в темноте. На 30-е сутки культивирования наблюдалось проклевывание и прорастание семян. При пересадке двухнедельных проростков на МС с БАП (1 мг/л) через 14 суток наблюдалось активное побегообразование, которое прекращалось через 10 суток с последующим каллусогенезом. На МС с БАП (1 мг/л) и НУК (1 мг/л) через 30 суток у половины проростков отмечалось каллусообразование, у другой половины – побегообразование. Первичные каллусы пересаживали на три варианта питательной среды: № 1 (МС с добавлением 2,4-Д, 1 мг/л; БАП, 1 мг/л; НУК, 1 мг/л); № 2 (МС с добавлением 2,4-Д, 0,95 мг/л; БАП, 1 мг/л; НУК, 1 мг/л); № 3 (МС с добавлением 2,4-Д, 0,5 мг/л; БАП, 1 мг/л; НУК, 1 мг/л). На питательной среде № 1 прирост сырой массы каллуса составил 0,54 г, сухой массы – 0,047 г; на питательной среде № 2 прирост сырой массы составил 3,01 г, сухой массы – 0,14 г; на питательной среде № 3 прирост сырой массы – 1,4 г, сухой массы – 0,89 г.

Выводы: Разработан эффективный протокол стерилизации семян *Thermopsis jacutica*, обеспечивающий получение стерильных проростков. Установлено, что добавление БАП (1 мг/л) в питательную среду МС стимулирует побегообразование, а комбинация БАП и НУК (по 1 мг/л) приводит к одновременному каллусо- и побегообразованию. На стабильно растущих каллусных культурах *Thermopsis jacutica* изучена динамика роста биомассы. Наибольший прирост биомассы каллуса (3,01 г сырой и 0,14 г сухой массы за 30 суток) достигнут на среде № 2 (МС + 2,4-Д, 0,95 мг/л; БАП, 1 мг/л; НУК, 1 мг/л). Полученные данные позволяют продолжить оптимизацию состава питательной среды для изучения накопления целевых биологически активных соединений в каллусной культуре клеток данного редкого вида растения.

Финансирование: Исследование поддержано РНФ № 22-14-20031, https://rscf.ru/project/22-14-20031/ (2024), проектным финансированием лабораторий СВФУ (2025).

doi 10.18699/PlantGen-2025-129

Изучение коллекции озимой твердой пшеницы по генам, оказывающим прямое и опосредованное влияние на морозостойкость растений

А.А. Лаппо[1]*, А.Г. Черноок[1], В.А. Коробкова[1], А.О. Блинков[1], А.С. Зеленина[1], А.В. Архипов[1], А.С. Ермолаев[1], И.В. Стрембовский[1], А.С. Яновский[2], Л.А. Беспалова[2], А.Д. Воропаева[2], Г.И. Карлов[1], М.Г. Дивашук[1]

[1] *Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия*
[2] *ФГБНУ «Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко» (ФБГНУ НЦЗ им. П.П. Лукьяненко), Краснодар, Россия*
* *nlap00@mail.ru*

Актуальность: Озимая твердая пшеница демонстрирует значительно более высокую урожайность по сравнению с яровой, однако ее производство ограничивается риском вымерзания. Вымерзание является результатом совокупного воздействия различных абиотических и биотических стрессов, среди которых наибольшее влияние оказывают низкие температуры. Использование в производстве устойчивых, хорошо адаптированных морозостойких сортов позволит минимизировать риск гибели посевов.

Цель: Провести скрининг коллекции озимой твердой пшеницы по генам, которые вносят основной и косвенный вклад в формирование адаптации растений к холоду и оценили степень их влияния.

Материалы и методы: Объектом исследования стала коллекция озимой твердой пшеницы, состоящая из 234 сортов и перспективных линий как российской, так и зарубежной селекции. ДНК выделяли из перемолотого зерна с помощью набора реагентов «МагноПрайм® ГМО» на автоматизированной станции для массового выделения ДНК Auto-Pure 96 (Allsheng, КНР). Выборка состояла из 15–20 зерен на сортообразец. KASP ПЦР проводилась на приборах Bio-Rad CFX 96 и CFX 384 по рекомендуемым производителем условиям. Реакционная смесь включала Mastermix с карбоксифлуоресцеином и гексахлорфлуоресцеином в качестве флуоресцентных красителей объемом 5 мкл, а также смесь двух прямых и одного общего обратного праймеров с концентрацией 50 мМ в соотношении 1:1:2.5 объемом 0,14 мкл. ДНК анализируемой пробы добавлялась в объеме 5 мкл (концентрация 50 нг/мкл). В общей сложности для генотипирования было использовано 12 KASP маркеров. Оценку селекционного материала на морозостойкость проводили по методике государственного сортоиспытания в фитотронном комплексе НЦЗ им. П.П. Лукьяненко.

Результаты: Скрининг с использованием KASP-маркеров выявил однородность исследуемой коллекции по гену *Rht1*: 99,2% генотипов несли мутантный аллель, ассоциированный с короткостебельностью. Аналогично по гену *Gw2-6B* 99,2% генотипов имели аллель, связанный со снижением размеров зерновки. В то же время было выявлено генетическое разнообразие коллекции по генам *VrnA1*, *DRO1*, *CWI*, *SUS1*, *TaTGW6-A1*, *Gw2-6A* и локусу *Fr-A2*.

Анализ влияния аллелей изучаемых генов на признак морозостойкости выявил отсутствие значимого влияния генов *Rht1*, *CWI*, *Gw2-6A* и *Gw2-6B* на данный признак. Морозостойкость растений сильно коррелировала с потребностью в длительной яровизации (0,59), которая определялась аллелем *vrnA1b*. Была выявлена сильная положительная корреляция (0,63) между морозостойкостью и аллелем гена *DRO1*, который ассоциирован с развитием глубоко залегающей корневой системы. Это может объясняться повышенной устойчивостью к засухе у таких генотипов. Аллель *TGW6-A1b* гена *TaTGW6-A1*, связанный с пониженной массой 1000 зерен, оказывал незначительное влияние на признак морозостойкости и позитивно коррелировал с ее повышением (0,33), а аллель *TGW6-A1a*, наоборот, негативно коррелировал с морозостойкостью. Также была выявлена слабая отрицательная корреляция (-0,26) аллеля Hap-T гена *SUS1*, отвечающего за повышенное накопление сахаров.

Для локуса *Fr-A2*, непосредственно отвечающего за морозостойкость, как и ожидалось, по всем трем нацеленным маркерам была зафиксирована высокая положительная корреляция аллелей толерантности с увеличением морозостойкости: S1077313 – 0,91, S1862541 – 0,90 и S2269949 – 0,90. Эти высокие значения корреляции косвенно подтверждают вклад локуса *Fr-A2* в морозостойкость и подчеркивают эффективность выбранных маркеров.

Выводы: Проведенный нами с использованием KASP-маркеров аллельный скрининг 234 сортов и перспективных линий озимой твердой пшеницы позволил выявить структуру изучаемой коллекции по генам *VrnA1*, *Rht1*, *DRO1*, *SUS1*, *CWI*, *TaTGW6-A1* и *Gw2*, оказывающим опосредованное влияние на признак морозостойкости и по локусу *Fr-A2*, непосредственно определяющему данный признак. Результаты аллельного скрининга подтвердили данные прямых оценок морозостойкости исследуемой коллекции.

Финансирование: Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РНФ № 24-16-00274, https://rscf.ru/project/24-16-00274/.

doi 10.18699/PlantGen-2025-130

Минеральный состав зерна мягкой и твердой пшеницы: атлас картированных QTLs

И.Н. Леонова[1]*, А.А. Киселева[1], И.Г. Адонина[1], П.Н. Мальчиков[1, 2], В.В. Пискарев[1, 3], В.А. Апарина[1, 3], Е.А. Салина[1]

[1] *Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия*
[2] *Самарский НИИСХ им. Н.М. Тулайкова – филиал СамНЦ РАН, пгт. Безенчук, Россия*
[3] *СибНИИРС – филиал ИЦиГ СО РАН, р.п. Краснообск, Новосибирская область, Россия*
* *leonova@bionet.nsc.ru*

Цель: Важной задачей селекции при создании новых адаптивных сортов пшеницы является расширение генетического разнообразия по генам, определяющим качество зерна. Одним из источников полезных веществ являются продукты питания из пшеницы, за счет которых большинство населения получает необходимое количества калорий, белка и микро-макроэлементов. Минеральные элементы являются жизненно важными веществами, которые необходимы человеку для ежедневного употребления, поддержания жизнедеятельности и здорового образа жизни. Цель данной работы: 1) сравнительное исследование образцов яровой мягкой (*Triticum aestivum* L.) и твердой (*T. durum* Desf.) пшеницы по содержанию минеральных веществ в зерне; 2) идентификация QTLs, ассоциированных с накоплением в зерне минеральных элементов.

Материалы и методы: В работе был использован следующий растительный материал: коллекция российских сортов и селекционных линий мягкой пшеницы; рекомбинантные инбредные линии *T. aestivum* с чужеродными интрогрессиями от *T. durum*, *T. dicoccum*, *T. dicoccoides*, *T. kiharae*; коллекция российских и зарубежных сортов и селекционных линий твердой пшеницы; картирующая популяция, полученная от скрещивания сорта мягкой пшеницы Лютесценс 85 с синтетической линией 1102, созданной в результате гибридизации с участием видов *Ae. tauschii*, *Secale cereale* и *Ae. speltoides*. Выращивание образцов для оценки минерального состава проводилось в экологических условиях двух регионов России (Самарская и Новосибирская области) в 2018–2024 гг. Содержание микро-, макроэлементов и тяжелых металлов: Ca, Mg, K, Mn, Zn, Fe, Cu, Pb, Cd, Cr – проводили с использованием атомно-абсорбционного спектрометра ContrAA 800 D.

Результаты: Сравнительный анализ содержания химических элементов показал, что образцы мягкой пшеницы уступают образцам твердой по концентрации таких элементов как цинк, медь и калий, но превышают по концентрации магния и кальция. Интрогрессивные линии с чужеродным генетическим материалом отличались значительным диапазоном вариации по концентрации таких элементов как Zn, Fe, Ca, Mg, K. Полногеномный поиск ассоциаций выявил новые эффективные локусы в хромосомах 1B, 2A, 2B, 3A, 5A, 5B, происходящие из геномов чужеродных видов и влияющие на накопление железа, цинка и кальция в зерне. В хромосомах 1B, 2A, 3B, 4B и 6B были картированы QTLs, значимо ассоциированные с содержанием токсичных металлов Cd и Cr в геноме твердой пшеницы и синтетической линии 1102. На основании полученных результатов создана база данных генетических локусов, влияющих на минеральный состав зерна, характерных для пшениц различного уровня плоидности.

Финансирование: Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 23-16-00041, https://rscf.ru/project/23-16-00041.

doi 10.18699/PlantGen-2025-131

Влияние кадмия и теплового шока на процессы в хлоропластах

Е.А. Лысенко[1]*, Н.А. Саввина[1, 2], В.В. Кузнецов[1]
[1] *Институт физиологии растений Российской академии наук, Москва, Россия*
[2] *Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва, Россия*
* *genlysenko@mail.ru*

Цель: Провести сравнительный анализ влияния двух разных, сильно действующих факторов стресса на сплайсинг интронов группы 2 в хлоропластах растений, а также провести поиск механизма выведения кадмия из хлоропластов растений.
Материалы и методы: Растения ячменя и кукурузы подвергали воздействию нескольких концентраций кадмия и ряда высоких температур. Выделяли хлоропласты, из них выделяли хлоропластную РНК. При помощи специально подобранных праймеров, одновременно анализировали содержание сплайсированных и несплайсированных транскриптов методом ОТ-ПЦР. В пробном эксперименте, в одном из генов изучали степень редактирования С/Т-сайтов как в сплайсированных, так и в несплайсированных транскриптах. Соответствующие транскрипты разделяли в геле, элюировали и производили Сэнгеровское секвенирование. Используя изотопы 111Cd и 114Cd, изучали динамику накопления кадмия в хлоропластах ячменя *in vivo*.
Результаты: В условиях повышенной температуры наблюдается уменьшение количества сплайсированных транскриптов и увеличение количества несплайсированных транскриптов, выявляемых методом ОТ-ПЦР. Этот эффект обнаружен для всех 11 интронов группы 2, существующих в пластомах ячменя и кукурузы. При повышенных температурах наблюдается уменьшение количества зрелого транскрипта гена rps12, объединяемого при помощи механизма транс-сплайсинга. В условиях высоких и почти летальных концентраций кадмия, паттерн сплайсированных и несплайсированных мРНК всех этих генов остается без изменений. Пробный эксперимент показал, что при повышенных температурах наблюдается снижение доли редактированных нуклеотидов (Т) и повышение доли нередактированных нуклеотидов (С). В отличие от сплайсинга, эффект на редактирование РНК не был универсальным. В некоторых сайтах наблюдался рост нередактированных нуклеотидов, а в некоторых степень редактирования была близка к 100% при любой температуре.
Применяя изотопно чистые соли кадмия, мы изучили динамику ранее накопленного кадмия в хлоропластах ячменя *in vivo*. Соли применялись в реципрокных парах – 111Cd/114Cd и 114Cd/111Cd – чтобы исключить специфичное влияние изотопа. После восьми дней воздействия, суммарное содержание кадмия в хлоропластах первого настоящего листа ячменя практически не изменялось. При этом количество ранее накопленного кадмия уменьшалось, и добавлялось примерно такое же количество кадмия, накопленного за эти восемь дней. Этот эффект наблюдался как в строме, так и в тилакоидах хлоропластов ячменя.
Выводы: Тепловой шок подавляет сплайсинг интронов группы 2 в хлоропластах растений. Данный эффект тепловго шока универсальный и специфичный. Тепловой шок ингибирует сплайсинг всех интронов группы 2 в белок-кодирующих генах хлоропластов, тогда как редактирование мРНК подавляется лишь в части сайтов. Кадмий даже в летальной концентрации не вызывает нарушения процесса сплайсинга мРНК в хлоропластах, что указывает на специфичность ингибирования тепловым шоком.
При росте растений в присутствии кадмия, его количество в хлоропластах остается на одном уровне. По-видимому, поступление новых порций кадмия компенсируется выведением ранее накопленного кадмия. Таким образом, растения применяют две стратегии защиты хлоропластов: ограничивают поступление кадмия в хлоропласты и выводят кадмий из хлоропластов. Существование второй стратегии у обычных растений (исключателей) показано впервые.
Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ № 25-24-00009.

doi 10.18699/PlantGen-2025-132

Эффективность использования метода электрофореза проламинов в первичном семеноводстве зерновых культур

А.В. Любимова*, Д.И. Ерёмин, Ю.С. Иванова
НИИСХ Северного Зауралья – филиал ТюмНЦ СО РАН, Тюмень, Россия
** ostapenkoav88@yandex.ru*

Цель: Оценка эффективности использования метода электрофореза запасных белков в первичном семеноводстве сортов овса и ячменя селекции НИИСХ Северного Зауралья – филиал ТюмНЦ СО РАН.
Материалы и методы: Исследования проводили в период с 2014 по 2024 г. Проанализированы новые перспективные сорта овса (Отрада, Фома, Тоболяк, Радужный) и ячменя (Абалак, Дивный) местной селекции. На основании данных о морфологическом анализе метелок и колосьев были отобраны семьи для исследований. Методом электрофореза в полиакриламидном геле исследовали по три зерна от каждой семьи. Количество проанализированных семей составило от 74 до 1285 штук.
Результаты: Основной метод, используемый в первичном семеноводстве – это отбор лучших, наиболее типичных растений по морфологическим признакам. Однако в настоящее время требования к качеству семенного материала значительно возросли. Соответственно, появилась необходимость в повышении эффективности процесса первичного семеноводства, в том числе с помощью методов биотехнологии и молекулярной биологии. Один из наиболее простых и относительно недорогих методов – это электрофорез запасных белков зерновых – проламинов. В ходе исследований авенинов сортов овса нами было выявлено от 7 до 35 типов спектра. Частота встречаемости основных биотипов варьировала от 75,2 (первый и второй биотипы сорта Отрада) до 97,7% (сорт Радужный). В каждой из исследованных популяций были выявлены гетерозиготные растения – от 0,2 до 16,0% (сорта Тоболяк и Отрада соответственно). Такие особи могут послужить источником сортовой примеси при последующих пересевах и расщеплениях, а их удаление из популяции поспособствует поддержанию генетической стабильности сорта. Анализ компонентного состава сорта Отрада проводили в течение трех лет – 2014, 2015 и 2018 гг. В результате выбраковки отличающихся генотипов, количество сортовой примеси снизилось с 24,8 до 4,7%, а количество типов спектров, отличающихся от основных, уменьшилось с 35 до 3 штук. В ходе проведенных работ для исследованных сортов разработаны паспорта на основе эталонных электрофоретических спектров авенина и идентифицированы аллели авенин-кодирующих локусов. Белковые формулы сортов овса имеют вид: Отрада *Avn 10+11.4.8*; Фома *Avn 11.11.8*; Тоболяк *Avn 4.8.2*; Радужный *Avn 2.2.6*. В результате анализа гордеинов сортов ячменя было выявлено по 7 типов спектра. Частота встречаемости основного биотипа у сорта Абалак составила 96,6%, у сорта Дивный – 98,0%. Доля минорных биотипов составила от 0,1 до 0,5%. По результатам анализа компонентного состава проламинов, семьи с минорными биотипами были удалены из дальнейшего размножения. Наличие минорных биотипов, по нашему мнению, связано с особенностями выведения сортов. Исследованные сорта были созданы методом гибридизации с последующим индивидуальным отбором в F_4–F_6. При этом в результате отборов были оставлены и растения, гетерозиготные по проламин-кодирующим локусам. В процессе дальнейших расщеплений это привело к появлению минорных биотипов. Кроме того, для ряда генотипов было установлено их появление в результате механического засорения – спектры таких образцов содержали аллели проламин-кодирующих локусов, отсутствующие у родительских сортов.
Выводы: Внедрение метода электрофореза запасных белков в систему первичного семеноводства позволяет эффективно выявлять гетерозиготы и генотипы, отличающиеся по компонентному составу проламинов. Своевременное исключение таких особей из популяции сорта позволяет предотвратить дальнейшее размножение генотипов, возникших в результате биологической и механической примеси и сохранить генетическую стабильность сорта.
Финансирование: Работа выполнена за счет государственного задания № 124022900011-6 и при поддержке Западно-Сибирского межрегионального научно-образовательного центра мирового уровня.

doi 10.18699/PlantGen-2025-133

Микробиомный анализ восстанавливающихся после высыхания растений и ризосферных почв

И.С. Ляпина[1]*, В.К. Чеботарь[2], Е.П. Чижевская[2], И.А. Фесенко

[1] *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), Москва, Россия*

[2] *Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии» (ФГБНУ ВНИИСХМ), Санкт-Петербург, Россия*

** amadeynemez@gmail.com*

Цель: В последние годы такие проблемы как изменения климата, нехватка ресурсов, ухудшение качества почв усложняют ведение сельского хозяйства. Микробные сообщества в ризосфере, филлосфере (листья и надземные части) и эндосфере, включающие бактерии, археи и грибы, способствуют росту и жизнедеятельности растений и могут повышать их устойчивость к патогенам и стрессовым условиям. Несмотря на значительные успехи в изучении структуры микробных сообществ растений с использованием современных методов секвенирования, их функциональная роль в поддержании роста и устойчивости растений при стрессовых условиях пока не изучена в достаточной степени. Исследование состава микробных сообществ растений, устойчивых к стрессовым факторам окружающей среды, таким как засуха, представляет собой важный шаг в разработке синтетических микробных сообществ (SynCom) для повышения продуктивности растений.

Материалы и методы: Состав микробиоты 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, была проанализирована методом 16S рРНК секвенирования. Библиотеки 16S рРНК подготавливали с помощью секвенирования фрагмента V4 (515F – 806R). Анализ данных проводили с помощью пакета QIIME2.

Результаты: Был проведен сравнительный анализ микробиомов стеблей, корней и ризосферной почвы засухоустойчивых и восстанавливающихся после высыхания растений, для выявления различий в составе микробиоты. Мы показали, что все образцы из ризосферных почв отличались высоким разнообразием микробных видов. Самим низким разнообразием обладали образцы из стеблей *A. pseudalhagi* и *A. desertorum*. Также наш анализ показал, что, в отличие от ризосферных почв, микробиомы внутри каждого растения значительно отличались друг от друга. В ходе анализа были выявлены ключевые таксоны микроорганизмов, характерные для каждого типа образцов.

Выводы: Мы показали, что среди проанализированных образцов наиболее распространенные виды бактерий относились к типам *Proteobacteria*, *Actinobacteria* и *Bacteroidota* для ризосферных почв и корней, и к типам *Actinobacteria* и *Proteobacteria* для тканей стеблей. Наиболее высокое разнообразие уникальных видов бактерий наблюдалось в образцах ризосферных почв всех изучаемых растений, а наибольшее количество уникальных видов бактерий было обнаружено в образцах *C. album*.

Финансирование: Исследование поддержано Российским научным фондом, грант № 23-66-10013.

doi 10.18699/PlantGen-2025-134

Роль вариантов сайта связывания транскрипционного фактора ETHYLENE-INSENSITIVE3 в модуляции транскрипционного ответа генов на этилен у *Arabidopsis thaliana* L.

А.А. Маслакова[1]*, В.А. Долгих[1, 2], А.Д. Сидоренко[1], Е.В. Землянская[1, 2]
[1] *Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия*
[2] *Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия*
* *maslakova@bionet.nsc.ru*

Цель: Этилен – это единственный газообразный фитогормон. Он обладает широким спектром действия, регулируя среди прочего хозяйственно ценные признаки, такие как прорастание семян, созревание и опадение плодов, устойчивость к биотическим и абиотическим стрессам. Этилен запускает сигнальный путь, который активирует транскрипционные факторы (ТФ) ETHYLENE-INSENSITIVE3 (EIN3) и EIN3-Like1 (EIL1). Однако до сих пор во многом неясно, каким образом активация лишь двух ТФ обеспечивает управление всем спектром ответов на этот фитогормон. У *Arabidopsis thaliana* ТФ EIN3 и EIL1 связываются со специфической нуклеотидной последовательностью в промоторах, называемой EBS (от англ. EIN3 binding site), и запускают транскрипционный ответ генов. Ранее в результате биоинформатического анализа мы обнаружили, что существует несколько вариантов EBS, которые, обладая общим консервативным ядром, весьма значительно отличаются друг от друга за его пределами и, вероятно, могут обеспечивать разный транскрипционный ответ генов при связывании EIN3. В этой работе мы исследуем, как предсказанные варианты EBS влияют на активацию транскрипции генов под действием этилена *in planta*.
Материалы и методы: Проведен *in silico* рациональный дизайн синтетических регуляторных элементов на основе вариантов EBS-мотивов, которые далее были использованы для создания генетических конструкций, экспрессирующих репортерный ген под контролем этих регуляторных элементов. Агробактериальную трансформацию растений *A. thaliana* осуществляли методом погружения цветков. Активность репортера оценивали с помощью флуоресцентной микроскопии.
Результаты: Установлена способность вариантов EBS активировать транскрипцию репортерного гена *in planta* в ответ на обработку трансгенных растений биосинтетическим предшественником этилена (1-аминоциклопропан-1-карбоновой кислотой; АЦК). Выявлены и описаны специфические особенности АЦК-зависимой транскрипции, опосредованной различными вариантами EBS, в тканях растения (паттерн экспрессии репортерного гена, сила и дозовая зависимость транскрипционного ответа).
Выводы: Результаты работы свидетельствуют в пользу того, что вариантность сайта связывания EIN3 представляет собой важный механизм модуляции транскрипционного ответа генов на этилен у растений.

doi 10.18699/PlantGen-2025-135

Транскриптомные и эпигенетические изменения, вызванные новыми инсерциями мобильных элементов в геноме *Arabidopsis thaliana*

П.Ю. Меркулов[1, 2] *, К.Н. Тюрин[1, 2], А.А. Латыпова[1, 2], М.А. Серганова[1, 2], И.В. Киров[1, 2]
[1] *Московский физико-технический институт, Долгопрудный, Россия*
[2] *Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия*
* *paulmerkulov97@gmail.com*

Цель: Изучить транскрипционные изменения и ДНК-метилирование в местах экспериментально полученных *de novo* инсерций у растений арабидопсиса дикого типа.
Материалы и методы: Для наследуемой транспозиции элементов *ONSEN* растения *A. thaliana* Col-0 (популяция M0) были выращены *in vitro* с добавлением α-аманитина и зебуларина и подвергнуты тепловому стрессу. Полученная в результате самоопыления популяция M2 была генотипирована по количеству новых инсерций ONSEN при помощи qPCR и метода транспозонного дисплея. Для оценки изменений транскриптома и метилирования ДНК было проведено нанопоровое секвенирование ДНК и кДНК независимых линий M2. Биоинформатический анализ транскрипционных изменений проводился с использованием инструментов StringTie, DESeq2. Анализ метилирования проводили с использованием инструментов Dorado (v0.7.2) basecaller hac и modkit. Для визуализации результатов использовали пакеты matplotlib, ggplot, methylartist.
Результаты: Путем последовательного самоопыления растений *A. thaliana* M0 после активации мобильных элементов нами была получена популяция растений M2, содержащая в геноме новые наследуемые инсерции элементов семейства *ONSEN*. При генотипировании нами были обнаружены существенные различия в копийности *ONSEN* между растениями M2. Определением местоположения новых инсерций *ONSEN* выявлено значительное преимущество сайтов (18 из 57, p-value = 1.065e-14), обогащенных вариантом гистона H2A.Z совместно с эпигенетическими метками H3K27me3 и H3K4me2. Кроме того, почти половина инсерций (27 из 57) находилась в гетерозиготном состоянии. При анализе транскрипционных изменений мы обнаружили, что многие гены с новыми инсерциями *ONSEN* не экспрессируются ни в Col-0, ни в линиях M2 в условиях отсутствия стресса, но индуцируются стрессом или экспрессируются на определенных стадиях развития. Для половины транскрибируемых генов мы детектировали интронизацию полноразмерных последовательностей *ONSEN*. Более интересным является обнаружение изменений в альтернативном сплайсинге, где элементы *ONSEN* могут вводить новые сайты старта и терминации транскрипции в условиях отсутствия стресса. При анализе ДНК-метилирования оригинальных копий *ONSEN* мы отсутствие повышенного уровня CHH метилирования для центромерных и перицентромерных *ONSEN*. Кроме того, наибольшие отклонения в паттернах метилировании *ONSEN* были обнаружены у элементов, которые произвели наибольшее количество новых инсерций. При оценке ДНК-метилирования новых инсерций мы обнаружили, что паттерн коррелирует с их позицией в геноме, как и для родительских копий. Дополнительно мы также выявили асимметричное распространение CHH метилирование за пределы границ некоторых новых инсерций.
Выводы: Выявленное нами предпочтение интеграции *ONSEN* в специфические регионы еще раз подтверждает модель, где мобильные элементы могут избегать транспозиции, снижающей приспособленность растений. Применение длинных прочтений позволило точно охарактеризовать корреляцию профиля ДНК-метилирования как оригинальных, так и новых копий с их позицией в геноме. Это подчеркивает существование доминации специфических регуляторных механизмов транспозонов в каждой из хромосомных областей. Кроме того, высокое ДНК-метилирование новых инсерций *ONSEN* свидетельствует их подавлению механизмами РНК-направленного ДНК-метилирования (англ. RNA-dependent DNA methylation – RdDM). Возникающий при этом высокий уровень метилирования CHG может объяснить, как значительная часть новых внутригенных инсерций нивелируется процессингом РНК. Однако стоит отметить, что взятая под контроль механизмами RdDM, часть инсерций приводила к возникновению аберрантных транскриптов. В сравнении с тем, как тонко отрегулированы давно закрепленные внутригенные инсерции *A. thaliana*, мы предполагаем, что данное явление может быть исключено в последующих поколениях. В заключении, наша работа подчеркивает, насколько быстро возникает баланс между экспрессией генов и сайленсингом транспозонов, что позволяет значительно смягчить негативные последствия вспышек транспозиции на геном и приспособленность растений в целом.
Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ № 22-74-10055.

doi 10.18699/PlantGen-2025-136

Генотипирование образцов яровой мягкой пшеницы различного происхождения по генам *Ppd* и *Vrn* для использования в селекции на скороспелость в Нечерноземной зоне России

М.Д. Метт
ФИЦ «Немчиновка», Москва, Россия
mari.mett@mail.ru

Цель: Оценить сортовой, коллекционный и селекционный материал различного происхождения по генам *Ppd* и *Vrn*, влияющих на длину вегетационного периода, для создания скороспелых генотипов яровой пшеницы для Нечерноземной зоны России.

Материалы и методы: Проведена идентификация генов *Vrn* и *Ppd* у более 50 образцов яровой пшеницы различного происхождения: районированные сорта Нечерноземной зоны, новые прототипы сортов, сорта и линии из географически удаленных регионов (Иран, Алтай), а также образцы яровой пшеницы коллекции «Арсенал» с чужеродным генетическим материалом *Aegilops speltoides, Aegilops triuncialis, Triticum kiharae.* Линии вторичного генофонда получены от скрещивания образцов коллекции «Арсенал» с селекционной линией из Болгарии GT 96/90 с генетическим материалом вида *Triticum migushovae.* Выделение ДНК проводилось из трехдневных проростов с использованием набора МагноПрайм, а идентификация генов – с использованием аллель-специфичных праймеров.

Результаты: Установлено, что у сортов селекции ФИЦ «Немчиновка» Родина, Злата, Агата, Радмира, Невская, Агрос, Эстер присутствует ген *Vrn-A1b*. У 6 сортов: Любава, Марфа, Богдана, Беляна и двух новых линий (Saturn x Злата) присутствует одновременно два гена *Vrn-A1b* и ген *Vrn-B1*. У сортов Агата и Невская предполагается наличие аллеля *Vrn-B1*c. У сортов Эстер, Злата, Марфа, Беляна и одной новой линии (Saturn x Злата) идентифицирован нечувствительный к фотопериоду ген *Ppd-B1a*. У иранского сорта Ибаа идентифицирован нечувствительный к фотопериоду ген *Ppd-A1a*. У этого сорта также присутствует гены *Vrn-B1* и *Vrn-D1*. Скороспелость сорта Махибах определяется наличием только доминантных генов *Vrn-A1b* и *Vrn-D1*.

У пяти линий коллекции «Арсенал» 121/00i, 122/00i-1, 136/00i, 138/00i и 124/05i присутствует нечувствительный к фотопериоду ген *Ppd-D1a*. У 6 образцов (112/00i-4, 123/00i, 127/00i, 124/00i, 135/10i) идентифицирован ген *Ppd-B1a*, у линии 120/00i этот ген присутствует в сочетании с *Ppd-D1a*. У всех линий коллекции, кроме 135/10i, идентифицирован доминантный ген *Vrn-A1b*, а у линии 124/00i – этот ген сочетается с геном *Vrn-B1*. У позднеспелой линии 135/10i идентифицирован единственный ген *Vrn-B1*. У двух линий вторичного происхождения коллекции «Арсенал» 31/16i, 36/16i идентифицирован нечувствительный к длине дня аллель *Ppd-B1a* в сочетании с гетерозиготой по гену *Ppd-D1*. У этих линий присутствуют доминантные гены *Vrn-A1b* и *Vrn-B1*.

Из гибридных популяций F6 от скрещивания образцов коллекции «Арсенал» с сортом Саратовская 29 и линией Л592 в старших поколениях выделены индивидуальные растения с коротким и длинным периодом «всходы-колошение». У 7 линий короткий период обеспечивается нечувствительным к фотопериоду геном *Ppd-B1a*, у 6 линий – геном *Ppd-D1a*, в том числе у трех из них – одновременным присутствием *Ppd-B1a* и *Ppd-D1a*. Выделена линия 50-22i с двумя доминантными генами *Vrn-A1b* и *Vrn-B1*. В изученной выборке образцов нечувствительный к фотопериоду ген *Ppd-A1a* встречается с низкой частотой – 1,8%. Ген *Ppd-B1a* – с частотой 42,9%, а ген *Ppd-D1a* – с частотой 21,4%. Доминантный ген *Vrn-A1b* среди всех изученных линий встречается с частотой 85,7%. Частота встречаемости доминантного гена *Vrn-B1* у изученных образцов составляет 32,1%. Частота встречаемости доминантного гена *Vrn-D1* невысока: 3,6%. Он идентифицирован только у двух скороспелых иранских сортов Ибаа и Махибах.

Для получения более скороспелых линий с комплексом хозяйственно ценных признаков и свойств планируются простые и сложные ступенчатые скрещивания для создания материала со всеми доминантными генами *Vrn* и нечувствительными к фотопериоду *(Ppd-A1a, Ppd-B1a, Ppd-D1a).* В качестве родительских линий будут использоваться сорта Ибаа 99 (*Ppd-A1a*/*Vrn-A1b*/*Vrn-B1*/*Vrn-D1*), Злата (*Ppd-B1a*/*Vrn-A1b*), Любава (*Vrn-A1b*/*Vrn-B1*), Марфа, Беляна (*Ppd-B1a*/*Vrn-A1b*/*Vrn-B1*), а также линии коллекции «Арсенал» 120/00i (*Ppd-B1a*/*Ppd-D1a*/*Vrn-A1b*), 28/16i (*Ppd-B1a*/*Vrn-A1b*/*Vrn-B1*). Скрещивания будут проводится с учетом устойчивости родительских форм к мучнистой росе, бурой и стеблевой ржавчине и желтой пятнистости листьев. Планируется создание новых генотипов яровой пшеницы с укороченным периодом «всходы–колошение» и устойчивостью к грибным болезням.

Выводы: Выделены источники с перспективным сочетанием нескольких генов *Ppd* и *Vrn* для создания скороспелых продуктивных линий в Нечерноземной зоне России.

doi 10.18699/PlantGen-2025-137

Топинамбур (*Helianthus tuberosus* L.) и его изучение в условиях Таджикистана

С. Мирзоали[1]*, Б.Н. Сатторов[2], Н.Х. Сайдалиев[3], Е.Н. Кубарев[4]
[1] *Таджикский государственный педагогический университет им. С. Айни, Душанбе, Республика Таджикистан*
[2] *Институт ботаники, физиологии и генетики растений НАН Таджикистана, Душанбе, Республика Таджикистан*
[3] *Таджикский национальный университет, Душанбе, Республика Таджикистан*
[4] *Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*
* *safarmadi.mirzoali.1991@mail.ru*

Цель: Изучить особенности роста и развития, биологическую продуктивность растений, урожай общей биомассы и клубней топинамбура в долине и в горной зоне Таджикистана и оценить перспективность использования топинамбура как продовольственного продукта, как корма для животных и как сырья для получения биотоплива. **Материалы и методы:** Научные работы по изучению особенностей роста и развития, а также проявления ряда морфологических полигенных признаков различных генотипов топинамбура были проведены в течение 2016–2022 гг. в различных агроэкологических условиях Республики Таджикистан: Васейский район – 460 м над уровнем моря (н.у.м.), Вахшский район – 600 м н.у.м. и в г. Душанбе – 840 м н.у.м., Муминабадский район – 1200 м н.у.м., Раштский район –1800 м н.у.м., Ляхшский район – 2000 м н.у.м., город Вахдат (участок Канаск) – 2560 м н.у.м. В этих районах сумма эффективных температур колеблется от 895 до 3760 ºС. Количество осадков в виде дождя и снега в течение года колеблется от 300 до 800 мм. Почвы районов, где проводили эксперименты, являются бедными по содержанию гумуса (0,5–2,0%) в пахотном горизонте. Здесь тип почвы в основном сероземы и карбонатные почвы. Материалом для проведения исследований служили элитные и сортовые семенные клубни (I–II семенной репродукции) различных генотипов/сортов топинамбура (*Helianthus tuberosus* L.). Исходный материал нами был получен из коллекции Института ботаники, физиологии и генетики растений Национальной академии наук Таджикистана (ИБФГР НАНТ), Всероссийского научно-исследовательского института растениеводства (ВИР, Майкопской опытной станции, Республика Адыгея) и Кубанского аграрного университета (Россия). Количество изученных сортообразцов топинамбура в этих районах составило 16–20 шт. Сортообразцы топинамбура выращивали на основе общепринятой агротехники для каждой агроэкологической зоны. В зависимости от высоты над уровнем моря клубни генотипов/сортов топинамбура высаживали в течение марта–апреля по схеме посадки 70×35 см. Были проведены следующее агротехнические работы: внесение минеральных удобрений ($N_{100}P_{150}K_{80}$ кг/га), две междурядные обработки (вручную), культивация междурядий, окучивание рядов и 5–7 вегетационных поливов. Стандартом служил сорт Интерес (селекции России). Во время вегетации топинамбура были проведены следующие фенологические учеты и наблюдений: учет всходов, высота растений в разных фазах развития растений, количество листьев, количество стеблей, масса корней, количество клубней, масса клубней, общая биомасса растений. **Результаты:** В различных экологических зонах, наблюдается существенное влияние агроэкологических факторов на рост и развитие сортообразцов топинамбура. Высота над уровнем моря по мере нарастания от 470 до 2550 м вызывает снижение урожайности клубней топинамбура от 63,0 до 10,0 т/га. Урожайность клубней топинамбура на высоте 2560 м в 6,3 раза выше, чем на высоте 460 м н.у.м. В разных экологических условиях Таджикистана средняя урожайность общей биомассы сортообразцов топинамбура при их выращивании на высотах от 460 до 2560 м н.у.м. составляет 91,8 т/га, это может быть важным биоресурсом для поддержки кормовой базы в животноводстве, а также продуктом питания (клубней) для населения в будущем. Учеными Института ботаники, физиологии и генетики растении НАН Таджикистана в течение 2005–2015 гг. в результате использования метода отбора среди сорта топинамбура Интерес, выведен новый сорт топинамбура Сарват (Богатство). Новый сорт топинамбура в отличие от материнского сорта Интерес имеет более ровные и гладкие клубни, что удобно при консервировании клубней. Этот сорт в 2017 г. районирован по республике. В производственных условиях по урожайности превышает другие сорта на 25–30%. Урожайность клубней сорта Сарват составляет 45–50 т/га, а общая биологическая масса 60–70 т/га. Клубни топинамбура являются хорошим средством для снижения содержания сахаров в крови человека. Сорт выращивается на каменистых и малоплодородных почвах. (Авторы сорта Партоев К., Ахмедов Х.М., Мирзоев Н.Р., Сайдалиев Н.Х. и Ясинов Ш.М.) Таким образом, наиболее подходящими зонами для возделывания и получения высокой урожайности топинамбура в условиях Таджикистана являются районы, расположенные на высотах от 460 до 1200 м н.у.м., с общей суммой эффективных температур во время вегетации растений от 2280 до 3760 ºС и сравнительно с низким содержанием гумуса (0,5–2,0%) в пахотном горизонте. В будущем таджикские фермеры посредством посадки топинамбура могут получать высокую массу этой культуры, что важно для усиления кормовой базы в животноводстве; топинамбур также может использоваться как продукт питания для населения. Благодаря посадкам топинамбура можно в два–три раза повысить выход биологической массы растений с единицы площади и тем самым укрепить кормовую базу для животноводства и продовольственную безопасность в республике. С другой стороны, посредством широкой посадки топинамбура на различных типах почвы можно значительно повысить экономическую отдачу земельных ресурсов Таджикистана в будущем.

doi 10.18699/PlantGen-2025-138

Генетическая модификация пути биосинтеза жасмонатов в пшенице

Д.Н. Мирошниченко[1, 2]*, А.В. Пиголев[1], Е.А. Дегтярёв[1], А.С. Пушин[2], В.И. Дегтярёва[2], В.В. Алексеева[2], А.А. Фролов[3], С.В. Долгов[2], Т.В. Савченко[1]

[1] *Институт фундаментальных проблем биологии, Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», Пущино, Московская область, Россия*

[2] *Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Пущино, Московская область, Россия*

[3] *Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия*

** miroshnichenko@bibch.ru*

Фитогормоны жасмонаты участвуют в регуляции защитных механизмов при биотических и абиотических стрессах, а также влияют на рост и развитие растений. Растущее количество экспериментальных данных свидетельствует о том, что стимуляция защитных реакций, регулируемых жасмонатом, может быть эффективной стратегией повышения устойчивости растений. В настоящий момент биосинтез и функционирование жасмонатной системы растений подробно изучены у модельного двудольного растения *Arabidopsis thaliana.* Тогда как функции и молекулярные механизмы действия жасмонатов у однодольных растений, и в частности у представителей рода *Triticum* L., еще малоизучены.

С целью исследования жасмонат-зависимой регуляции метаболизма и продукционных процессов у пшеницы нами получен ряд генетически модифицированных линий с измененным содержанием жасмонатов. Коллекция включает линии мягкой пшеницы (*T. aestivum*) и пшеницы полбы (*T. dicoccum*), трансформированные векторами для сверхэкспрессии ключевых генов пути биосинтеза жасмоната, а именно гена алленоксидсинтазы (*AOS*, кодирует локализованный в хлоропластах белок), и гена 12-оксофитодиеноатредуктазы (*OPR,* кодирует фермент, локализованный в пероксисомах), включая растения, сверхэкспрессирующие гены *A. thaliana AtAOS* и *AtOPR3*, либо их гомологи из пшеницы *TaAOS* и *TaOPR*, а также растения, трансформированные векторами, несущими RNAi-конструкты, нацеленные на подавление экспрессии *AOS*. В результате идентифицированы линии с существенным изменением содержания жасмонатов (12-ОФДК, ЖК, ЖК-Ile). Описаны различающиеся эффекты сверхэкспрессии *AOS* и *OPR* у полбы и мягкой пшеницы, заключающиеся в заметном изменении фенотипа, роста и развития трансгенных растений. У линий мягкой пшеницы экспрессирующих *AtAOS*, чаще, чем у пшеницы полбы, наблюдали отставание в росте, сокращение числа зерен в колосе и снижение веса семян. Похожий эффект наблюдали при экзогенной многократной обработке метилжасмонатом (МеЖАК) нетрансгенных растений, также ведущей к замедлению роста, запаздыванию цветения, сокращению длины растений и колоса, особенно у мягкой пшеницы. Анализ устойчивости к стрессовым факторам биотической и абиотической природы выявил повышенную устойчивость у ряда трансгенных линий к низким температурам, дефициту воды и осмотическому стрессу. С другой стороны, повышенный стресс-индуцируемый уровень жасмонатов коррелировал с повышенной восприимчивостью к некротрофному фитопатогену *B. cinerea* как у мягкой пшеницы, так и пшеницы полбы. Накопленный в результате исследований научный материал раскрыл многообразие функций жасмонатов, участие этих гормонов в формировании продуктивности и качества зерна у пшеницы, позволил выявить некоторые молекулярные маркеры, связанные с устойчивостью растений к неблагоприятным условиям среды. Полученная нами коллекция трансгенных линий с широким спектром экспрессионных изменений (от подавления до сверхэкспрессии) является ценным инструментом для выяснения функционирования жасмонатной системы у зерновых культур.

Финансирование: Исследование поддержано Российским научным фондом, грант № 22-16-00047-П.

doi 10.18699/PlantGen-2025-139

Биотехнологические и геномные исследования плодовых и ягодных культур

И.В. Митрофанова[1]*, О.И. Молканова[1], М.В. Гладышева-Азгари[1, 2]
[1] *Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина Российской академии наук, Москва, Россия*
[2] *Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия*
* *irimitrofanova@yandex.ru*

Цель: Разработка, модификация и объединение современных методов и подходов в исследовании перспективных видов, сортов и форм плодовых и ягодных культур для анализа и создания коллекций ценной генетической плазмы.

Материалы и методы: Биотехнологические методы были использованы в работе с перспективными сортами и формами дальневосточных видов актинидии (*Actinidia arguta*, *A. kolomikta* и *A. polygama*), жимолости синей (*Lonicera caerulea*) и хеномелиса (*Chaenomeles* sp.). Питательная среда: Quorin & Lepoivre (QL, 1977) и Murashige & Skoog (MS, 1964) с 30 г/л сахарозы, 6,8 г/л агара или 1,7 г/л Gelrite и 0,5, 0,8 и 1,0 мг/л БАП; 0,25 и 0,5 мг/л БАП, TDZ, mT и 2-ip. В качестве контроля использовали среду с добавлением 0,5 мг/л БАП. Экспланты культивировали при интенсивности освещения 3,0…3,5 Клк с 16-часовым фотопериодом при температуре 23±2 °C. По коэффициенту размножения сорта исследуемых видов были условно разделены на три группы: с наименьшими (от 3,4 до 5,9), средними (от 6,0 до 7,9) и наибольшими (от 8,0 до 9,9) значениями. Различия между средними значениями нескольких групп исследовали с помощью теста Дункана с множественными диапазонами. Исследовали различные морфо-анатомические показатели регенерантов как в условиях *in vitro*, так и *ex vitro*. Геномные и биоинформационные методы: из листьев актинидии дальневосточной была выделена ДНК и созданы библиотеки для секвенирования. Выравнивание и редактирование полученных последовательностей проводили с помощью программы BioEdit v.7.0.5.3. Для генотипирования коллекции актинидий использовали метод RAD-секвенирования. Анализ качества полученных нуклеотидных последовательностей был проведен в программе FASTQC. Для анализа структуры популяции были использованы параметрические методы, которые реализованы в программном обеспечении ADMIXTURE v. 1.3.0, использующие метод максимального правдоподобия, и Complot из пакета adegenet. Был выполнен поиск SNP, отличающих группу с опадаемыми и не опадаемыми при созревании плодами представителей *A. kolomikta*, который проводили с помощью метода дискриминантного анализа главных компонент (DAPC), реализованного в программном пакете adegenet.

Результаты: Впервые использованы различные биотехнологические подходы для размножения и сохранения изучаемых видов, сортов и форм актинидии дальневосточной, жимолости синей и хеномелиса. Выявлены особенности введения эксплантов в условия *in vitro*. Для получения максимального количества жизнеспособных регенерантов использовали апикальные почки и узлы побегов текущего года в фазе активного роста. Для расширения генетического разнообразия хеномелиса в качестве эксплантов использовали семена. Показано, что наибольшее влияние на коэффициент размножения оказывали сортовые особенности (50%), по сравнению с видовыми (34%) и случайным фактором (17%). Выявлено, что при использовании mT увеличивались число и высота микропобегов, и коэффициент размножения, по сравнению с 6-BAP и TDZ. Определены оптимальные концентрации ауксинов, тип и концентрация желирующих веществ, обеспечивающих индукцию корнеобразования у культивируемых микропобегов. Впервые проведены геномные исследования *Actinidia arguta*, *A. polygama*, *A. kolomikta* (женские и мужские растения), *A. purpurea* (женское растение), самоплодный сорт *A. kolomikta* ‘Dr. Szymanowski’. Собраны *de novo* полные геномы хлоропластов 4 видов рода *Actinidia* (*A. arguta*, *A. polygama*, *A. kolomikta*, *A. purpurea*) и самоплодного сорта *A. kolomikta* cv.‘Dr.Szymanowski’. Собраны *de novo* драфты митохондриальных геномов 4 видов рода *Actinidia* (*A. arguta*, *A. polygama*, *A. kolomikta* сорт ‘Dr.Szymanowski’, *A. purpurea*). Для трех видов: *A. arguta*, *A. polygama*, *A. purpurea* – обнаружено 39 общих генов. Митохондриальная ДНК *A. kolomikta* сорта ‘Dr. Szymanowski’ отличалась от остальных исследованных видов на 30 генов, тогда как *A. arguta*, *A. polygama* и *A. purpurea* имели по 6, 7 и 9 уникальных генов соответственно. Секвенированы и собраны *de novo* драфты полных геномов трех видов рода *Actinidia* (*A. arguta*, *A. kolomikta* и *A. polygama*). Показано, что субпопуляции видов *A. kolomikta* и *A. polygama* оказались более близкими, в отличие от *A. arguta*, представители которого образовали отдельный кластер. Популяции представителей видов *A. kolomikta* и *A. polygama* сформировали четкие обособленные группы, а популяция *A. arguta* разделилась на две подгруппы. Проведен сравнительный анализ геномных данных двух подгрупп *A. kolomikta* с опадаемыми и неопадаемыми плодами, обнаружены 73 различающих их SNP.

Выводы: Биотехнологические и геномные исследования раскрывают морфогенетический потенциал исследуемых видов и сортов, что в перспективе необходимо как для сохранения, так и размножения представителей плодовых и ягодных культур, обладающих прежде всего питательной ценностью. Полученные знания будут способствовать в дальнейшем созданию генобанка ценных видов, сортов и форм, а также получению новых функциональных продуктов питания.

Финансирование: Исследования, направленные на изучение хеномелиса, поддержано грантом РНФ № 25-16-00145. Результаты, полученные по жимолости и актинидии, выполняются при финансовой поддержки Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (госзадание № 124030100058-4).

doi 10.18699/PlantGen-2025-140

Картирование гена *Ant26*, контролирующего синтез проантоцианидинов в зерне ячменя (*Hordeum vulgare* L.)

К.А. Молобекова*, О.Ю. Шоева
Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
** k.molobekova@alumni.nsu.ru*

Цель: Проантоцианидины (ПА), полимерные флаваноиды, синтезируются в оболочке зерна ячменя, где играют роль в защите от стрессовых условий и поддержании покоя семени. Несмотря на то что путь биосинтеза ПА изучен достаточно подробно, все еще не известны гены, контролирующие заключительные этапы этого процесса. Считается, что ген *Ant26* играет важную роль в конечной стадии биосинтеза ПА, поскольку мутанты по локусу *Ant26* способны к синтезу прямых предшественников ПА, однако не содержат ПА в зрелых зернах. На данный момент неизвестна локализация гена *Ant26*, в связи с чем целью данной работы являлось определение области расположения гена *Ant26* в геноме ячменя.

Материалы и методы: Нами был проведен массовый сегрегантный анализ с использованием мутантной линии ячменя *ant26.483* с нарушенным синтезом ПА в зерне. Путем скрещивания *ant26.483* с сортом дикого типа Quench была получена картирующая популяция поколения F_2. Растения картирующей популяции были разделены по признаку наличия ПА в зерне на два пула, из которых далее выделяли ДНК и проводили генотипирование с помощью секвенирования (genotyping by sequencing, GBS). Фенотипирование растений на наличие ПА проводили путем погружения зерен поколения F_3 в 1N раствор NaOH с 0,01% TritonX на 8 часов (наблюдается потемнение зерна при наличии ПА). Библиотеки для GBS подготавливали с использованием эндонуклеаз рестрикции *MspI* и *PstI*, секвенирование проводили с помощью набора NextSeq 500/550 Mid Output Kit v2.5 (150 циклов) для одиночных прочтений на приборе Illumina MiSeq (Illumina, США). Для выравнивания прочтений на референсный геном и поиска полиморфизмов (SNP) использовали сборку Hordeum_vulgare. MorexV3 60 версии. Для каждого SNP извлекали информацию о глубине прочтения референсного и альтернативного аллелей. С помощью пакета qtlseqR для R проводилась фильтрация SNP с низким покрытием и расчет параметра Δ(SNP-index) [1]. Данный параметр отражает разницу в распределении частот аллелей между двумя пулами. Район генома со статистически высоким значением Δ(SNP-index) (p<0.01) определялся как целевой.

Результаты: Нами создана картирующая популяция поколения F_2, состоящая из 397 растений, из которых 23 обладали нарушенным синтезом ПА в зерне. В результате анализа данных GBS нами было выявлено 19,761 SNP, распределенных по геному ячменя, для которых был проведен расчет Δ(SNP-index). Это позволило выявить участок размером 251 Мб на 5H хромосоме ячменя ($\Delta(\text{SNP-index})_{max} = 0.62$, $\Delta(\text{SNP-index})_{min} = 0.40$, $\Delta(\text{SNP-index})_{mean} = 0.48$; p<0.01), в котором локализован ген *Ant26*.

Выводы: В данной работе впервые было установлено, что ген *Ant26*, контролирующий синтез ПА в зерне ячменя, расположен на 5H хромосоме ячменя в области размером 251 Мб.

Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ № 25-16-20101, https://rscf.ru/project/25-16-20101/.

Список литературы

1 Mansfeld B.N., Grumet R. QTLseqr: An R package for bulk segregant analysis with next-generation sequencing. *Plant Genome*. doi 10.3835/plantgenome2018.01.0006

doi 10.18699/PlantGen-2025-141

Создание кДНК библиотек растений рода *Citrus* для разработки цитогенетических маркеров

М.Г. Монахос, О.С. Александров, В.А. Коробкова, О.В. Разумова, Ю.Н. Смотрова, Д.В. Романов*
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», Москва, Россия
** akabos1987@gmail.com*

Цель: Использование для создания кДНК-библиотек большой коллекции цитрусов позволит получить большое количество цитогенетических маркеров для идентификации геномов, отдельных хромосом и участков хромосом, а также локализовать протеин-кодирующие гены на хромосомах изучаемых растений рода Цитрус. Эти знания помогут в понимании эволюции и уточнении систематики цитрусов, а также в проведении селекционной работы по созданию новых хозяйственно ценных гибридов цитрусов и по переносу генов хозяйственно ценных признаков: устойчивости к болезням и вредителям, химического состава, питательной ценности и других, от одних цитрусов к другим сельскохозяйственно важным представителям цитрусов.

Материалы и методы: Для выделения мРНК и последующего синтеза кДНК были использованы молодые листья изучаемых растений цитрусов. РНК выделяли с помощью набора «ExtractRNA» (Евроген, кат. BC032), в соответствии с прилагаемым протоколом. Концентрация и чистота РНК была проверена на спектрофотометре «NanoDrop One», Thermo Scientific. На мРНК с помощью набора «Mint kit» (Евроген, кат. SK005), в соответствии с прилагаемым протоколом, синтезировали 1 цепь кДНК, после чего синтезировали двуцепочечную кДНК, использовали амплификатор «T 100. Thermal Cycler», Bio-Rad. Подобранный ПЦР протокол для синтеза второй цепи состоял из предварительной денатурации (1 мин, 95 °C) и 18 циклов денатурации (15 с, 95 °C), отжига (20 с, 66 °C), и элонгации (3 мин, 72 °C). Очистку синтезированной кДНК от ПЦР продуктов проводили с помощью набора «Cleanup St PCR» (Евроген, кат. BC025S), в соответствии с прилагаемым протоколом. Очищенную кДНК встраивали в вектор «pAL2-T» с помощью набора «Quick-TA kit» (Евроген, кат. TAK02), после чего проводили химическую трансформацию векторов в клетки E. coli из «XL1-Blue» (Евроген, кат. CC001), в соответствии с прилагаемым протоколом. Трансформированные клетки высеяли на питательную среду с антибиотиком ампициллином и реактивом для бело-голубой селекции ИПТГ. Отобранные белые колонии были использованы для ПЦР с праймерами M13 с последующим электрофорезом для определения размера вставки кДНК внутри колонии *E. coli*. Колонии *E. coli* со вставками кДНК размером 1000 bp и более были использованы для выделения плазмидной ДНК с использованием набора «TheGeneJET™ Plasmid Miniprep Kit» (Fermentas, USA), в соответствии с прилагаемым протоколом. Мечение плазмидной ДНК было проведено методом Nick-трансляции с использованием «DIG-Nick Translation Mix» (Roche, Germany) и Biotin PCR Mix (Евроген), в соответствии с прилагаемыми протоколами. С полученными мечеными пробами была проведена Tyramide-FISH на цитологических препаратах изучаемых растений рода Цитрус по Kuipers et al. (1997) с некоторыми модификациями. Микроскопия цитологических препаратов после Tyramide-FISH была проведена с помощью микроскопа Leica DM6 B с камерой DFC 9000 GTC (Leica Microsystems, Германия) на увеличении ×63 с иммерсионным объективом, и встроенной программы LasX. Анализ изображений проведен с помощью программ LasX, DRAWID v.1.2 и MicroMeasure v.6.

Результаты: Нами были выделены мРНК изучаемых растений и созданы кДНК-библиотеки, приготовлены меченые ДНК пробы, поставлена высокочувствительная модификации флюоресцентной *in situ* гибридизации (Tyramide-FISH) на цитологических препаратах изучаемых растений рода Цитрус. Мы получили и проанализировали изображения метафазных хромосом с гибридизационными метками. Хромосомы после Tyramide-FISH имеют четкую структуру, с различимыми центромерами и теломерными окончаниями. Метафазные пластинки имеют хороший разброс хромосом. Сигналы гибридизации достаточно контрастные, значительно ярче фонового «шума». Это позволяет проводить необходимые измерения для составления физических карт распределения кДНК на хромосомах изучаемых растений рода Цитрус.

Выводы: Использованные и оптимизированные нами методики получения кДНК библиотек растений рода Цитрус позволяют получить большое количество цитогенетических маркеров на отдельные участки хромосом. В работе обсуждаются оптимизация методик получения кДНК, увеличение числа длинных кДНК и зависимость частоты гибридизации маркеров на хромосомы от размера кДНК.

Финансирование: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда, проект № 23-16-00234), https://rscf.ru/project/23-16-00234/.

doi 10.18699/PlantGen-2025-142

25 лет Казахстанско-Сибирской сети по улучшению яровой пшеницы: взаимодействие генотип–среда, мягкая *vs* твердая, эффекты генов и чемпионы урожайности

А.И. Моргунов[1]*, Т.В. Савин[2], В.А. Чудинов[3], В.С. Юсов[4], В.П. Шаманин[5]
[1] *Всероссийский НИИ сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия*
[2] *Научно-производственный центр им. А.И. Бараева, Шортанды, Акмолинская обл., Республика Казахстан*
[3] *Карабалыкская СХОС, Карабалык, Костанайская обл., Республика Казахстан*
[4] *Омский аграрный научный центр, Омск, Россия*
[5] *Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина, Омск, Россия*
* *alexey.morgounov@gmail.com*

Цель: Казахстанско-Сибирская сеть по улучшению яровой пшеницы (КАСИБ) была создана в 2000 году под эгидой СИММИТа для стимулирования обмена селекционными линиями и новыми сортами и параллельного изучения перспективного материала. Участниками сети являются более 20 селекционных и научных учреждений в Казахстане (Запад, Север и Восток) и России (Поволжье, Урал и Западная Сибирь). Участники передают координаторам 2–3 новые селекционные линии для включения в питомник КАСИБ, который высевается во всех учреждениях сети. Каждые два года питомник обновляется, и проводится совещание для обсуждения результатов и планирования работы. Координаторами сети выступают Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина в России и Карабалыкская СХОС в Казахстане. Настоящая работа подводит итоги 25-летия сети КАСИБ и суммирует исследования по признакам продуктивности, устойчивости к болезням и качеству зерна.

Материалы и методы: Питомник КАСИБ по яровой мягкой пшенице высевается в 12–15 пунктах и включает около 45–50 образцов, включая долгосрочный стандарт и стандарты по разным группам спелости. Аналогичный питомник по яровой твердой пшенице высевается в 6–8 пунктах и включает 25–30 образцов. В период с 2000 года были изучены более 500 образцов мягкой и более 250 образцов твердой пшеницы. Площадь делянки составляет 3–5 м^2 в двукратной повторности. Материал КАСИБ был прогенотипирован по молекулярным маркерам признаков адаптации и агрономических признаков. Ассоциированное маркирование было проведено на материале КАСИБ мягкой и твердой пшеницы.

Результаты: Данные признаков адаптации (высота и период вегетации) и продуктивности за 20 лет позволили провести анализ взаимодействия генотип-среда и определить сходство между пунктами КАСИБ. Это дало возможность подразделить весь обширный регион на агроэкологические зоны со сходными характеристиками. В селекционных программах очевиден приоритет на общую адаптацию с учетом специфических требований конкретных зон региона. Данные питомника КАСИБ в пунктах селекции яровой мягкой и твердой пшеницы (Актобе, Барнаул, Карабалык, Омск) были использованы для всестороннего сравнения двух культур по отклику на условия возделывания и погодные условия в период вегетации. Анализ 78 сортоопытов показал, что средняя урожайность двух культур была равной, однако твердая пшеница проявила себя как более отзывчивая на улучшение условий возделывания. Реакция на болезни существенно различается между двумя видами пшеницы. Оценка материала КАСИБ на устойчивость к бурой и стеблевой ржавчине в годы эпифитотий позволила определить генетическое разнообразие и эффективность Sr и Lr генов. К сожалению, большинство материала КАСИБ восприимчиво к ржавчине, и генетическое разнообразие устойчивости ограничено наличием лишь нескольких эффективных генов. Для проведения ассоциированного маркирования хозяйственно ценных признаков были отобраны основные наборы КАСИБ по мягкой и твердой пшенице, отражающие генетическое разнообразие всего материала. Фенотипирование материала проводили в нескольких пунктах КАСИБа в течение трех лет по мягкой и двух лет по твердой пшенице. В результате были идентифицированы маркеры генов со стабильными эффектами в различных условиях испытания, которые могут быть использованы в практической селекции. В каждом питомнике КАСИБ по результатам двухлетнего изучения выделяются образцы-чемпионы с наивысшей урожайностью по всем пунктам испытания. Эти образцы включаются в дальнейшее изучение и в скрещивания участниками КАСИБа, а также нередко становятся успешными коммерческими сортами, районированными в нескольких регионах.

Выводы: Многочисленные исследования, анализы и опыты, связанные с КАСИБом, внесли значительный вклад в понимание состояния селекции и разработку ее стратегии с учетом изменяющихся климатических условий. Опрос участников сети КАСИБ показал, что многие перспективные сорта были идентифицированы с использованием данных питомника КАСИБ, что подтверждает практическую ценность этого селекционного сотрудничества.

Финансирование: Грант РНФ № 25-64-00021 «Поиск и изучение новых генетических систем адаптивности и продуктивности для повышения эффективности селекции яровой мягкой пшеницы в Уральском и Западно-Сибирском регионах России». Программа целевого финансирования МСХ РК «Селекция и первичное семеноводство зерновых культур для повышения потенциала продуктивности, качества и стрессоустойчивости в различных почвенно-климатических зонах Казахстана».

doi 10.18699/PlantGen-2025-143

Гены азотного обмена в структуре урожая мягкой пшеницы в условиях Омской области

Т.Д. Мохов[1]*, А.А. Кочешкова[1], М.С. Баженов[1], А.С. Ермолаев[1], В.М. Трипутин[2], Ю.Н. Кашуба[2], А.Н. Ковтуненко[2], М.Е. Мухордова[2], М.Г. Дивашук[1], Г.И. Карлов[1]

[1] *ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», Москва, Россия*

[2] *ФГБНУ «Омский аграрный научный центр», Омск, Россия*

* *Timmokh@yandex.ru*

Цель: Оценка влияния аллельного состояния генов азотного обмена на хозяйственно ценные признаки в коллекции сортов и линий озимой мягкой пшеницы.

Материалы и методы: В качестве растительного материала использовалась коллекция сортов и линий мягкой озимой пшеницы. Данная коллекция состоит из 225 образцов, включающих районированные в данном регионе сорта и селекционные образцы. Они оценивалась в течение двух лет вегетации по фенотипическим признакам и урожайности в полевых условиях Омской области. Было проведено секвенирование ампликонов генов, связанных с азотным обменом у сортов отечественной селекции. На найденные полиморфизмы разработаны молекулярные маркеры. По результатам оценки коллекции на аллельное состояние и фенотипические признаки был проведен однофакторный дисперсионный анализ для оценки влияния аллелей на фенотип.

Результаты: На основе выявленных полиморфизмов в последовательностях этих генов были разработаны два ДНК-маркера для генов *TaGS2-2A*, *TaAMT-2B*, а также три KASP-маркера для генов *TaNLP3-3B*, *TaGRF9-6B* и *TaNGR5-1B*. В коллекции были идентифицированы образцы, содержащие мутантные аллели этих генов. Двулетний полевой эксперимент подтвердил влияние аллельного состояния генов азотного метаболизма на развитие хозяйственно ценных признаков пшеницы.

Результаты однофакторного дисперсионного анализа показали, что аллельное состояние генов оказывает статистически значимое влияние на ряд признаков, в том числе урожайность, масса 1000 зерен, масса зерна с колоса, число зерен в колосе, сроки наступления колошения, высота растений, а также устойчивость к полеганию.

Выводы: Эффективность усвоения азота является одним из ключевых факторов, существенно влияющих на формирование у растений хозяйственно ценных признаков и итоговую урожайность зерновых культур. Снижение негативного воздействия на экологию, за счет более рационального использования азотных удобрений является актуальной задачей современной селекции пшеницы. Одним из способов достижения этой цели является повышение эффективности усвоения азота за счет применения в селекционных программах новых аллелей генов, связанных с азотным обменом. Так как эффективность использования азота регулируется множеством генов, необходимо изучать генетику этого признака с применением методов молекулярной генетики. В данном исследовании нам удалось идентифицировать новые аллели генов азотного обмена с использованием методов секвенирования и биоинформатики. Мы разработали и валидировали молекулярные маркеры на них, в том числе современные KASP-маркеры. Проведенная статистическая обработка данных подтвердила существование влияния изученных аллелей на хозяйственно ценные фенотипические признаки пшеницы. Результаты, полученные в данной работе, могут быть использованы для составления рекомендаций для селекционных программ мягкой пшеницы, в том числе с использованием маркер-опосредованной селекции, а также для дальнейших исследований генетического механизма азотного обмена у растений.

Финансирование: Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, государственное задание FGUM-2025-0001.

doi 10.18699/PlantGen-2025-144

Новый баднавирус крапивы: обнаружение, секвенирование и анализ генома

Е.В. Моцарь[1]*, А.А. Шевелева[1], Ф.С. Шарко[2], И.В. Митрофанова[3], С.Н. Чирков[1]
[1] *Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия*
[2] *Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия*
[3] *Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина Российской академии наук, Москва, Россия*
* *elena.motsar31@gmail.com*

Цель: Изучение вирома растений с симптомами вирусной инфекции в насаждениях Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина РАН (Москва, Россия) с помощью высокопроизводительного секвенирования (high-throughput sequencing, HTS).
Материалы и методы: Общую РНК выделяли из свежих листьев с помощью набора RNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN). Библиотеки кДНК синтезировали с помощью набора TruSeq Stranded Total RNA Library Prep Plant Kit (Illumina) и секвенировали на платформе Illumina NovaSeq 6000. Контиги собирали *de novo* из парноконцевых прочтений длиной 150 нуклеотидов с помощью программы metaSPAdes v3.15.0. Вирусные контиги идентифицировали путем выравнивания на нуклеотидную коллекцию NCBI GenBank с помощью BLASTn с пороговым значением E-value = 1e-5. Множественные полногеномные последовательности баднавирусов, доступные в GenBank, выравнивали с помощью программы MAFFT v7. Филогенетическое дерево реконструировали методом максимального правдоподобия с использованием веб-сервера (https://ngphylogeny.fr/) и инструмента FastTree с применением модели GTR. Открытые рамки считывания (open reading frame, ORF) идентифицировали с помощью программы NCBI ORFfinder. Консервативные домены вирусных белков картировали с использованием базы данных NCBI Conserved Domain Database v3.21. Результаты HTS подтверждали с помощью ПЦР на матрице геномной ДНК, выделенной из растений крапивы с помощью набора NucleoSpin Plant II (Macherey-Nagel, Duren, Германия), с праймерами, разработанными на основе полногеномной последовательности крапивного баднавируса.
Результаты: Обнаружены растения крапивы *(Urtica dioica* L., семейство Urticaceae) с вирусоподобными симптомами окаймления жилок на листьях. Симптоматичные растения росли небольшими группами среди бессимптомных. При проведении HTS было получено свыше 21 млн парноконцевых прочтений, из которых собрано 4554 контига. В частности, собран контиг, отдаленно родственный (73,8% идентичности) полногеномной последовательности баднавируса green Sichuan pepper vein clearing-associated virus (GSPVCaV, MK371354). В области генома, кодирующей обратную транскриптазу и РНКазу H, нуклеотидная идентичность GSPVCaV и крапивного контига составила 76,3%, что было ниже демаркационного критерия вида в роде *Badnavirus* (семейство Caulimoviridae) для этого участка генома (80%) и указывало на обнаружение нового баднавируса. Новый вирус был назван nettle badnavirus 1 (NBV 1) (PP792697). Полный геном NBV 1 размером 7598 п.н. содержал три ORF. ORF перекрываются таким образом, что последний аденозин в стоп-кодонах TGA/TAA является первым нуклеотидом инициаторного ATG кодона следующей ORF. Геном начинается с сайта связывания транспортной РНК^{MET} (нт 1-18). ORF1 (нт 336-971) и ORF2 (нт 971-1348) потенциально способны кодировать белки из 211 и 125 аминокислотных (аа) остатков соответственно. ORF3 (нт 1348-7185) кодирует полипротеин, состоящий из 1945 аа. В полипротеине были идентифицированы консервативные мотивы цинкового пальца (аа 800-817), аспартатной протеазы (аа 1111-1200), обратной транскриптазы (аа 1322-1505) и РНКазы H (аа 1604-1732). Предполагаемый TATA-бокс (TATATAA, нт 7405-7411) и сигнал полиаденилирования (AATAAA, нт 7486-7491) были идентифицированы в большой межгенной области. Филогенетический анализ показал, что NBV 1 входил в одну кладу с баднавирусом, интегрированным в геном крапивы (OZ076864, хромосома 6, нт 40,912,896-40,920,440). По-видимому, NBV 1 не встроен в геном *U. dioica*, так как NBV 1 и последовательность интегрированного баднавируса идентичны всего на 78% и, таким образом, представляют собой разные баднавирусы. Наличие NBV 1 в образцах крапивы было подтверждено с помощью ПЦР как в симптоматичных, так и в соседнем бессимптомном растении крапивы. Однако в отдаленных бессимптомных растениях вирус не был обнаружен. Результаты секвенирования продуктов ПЦР оказались идентичны полученным при HTS соответствующих участков генома NBV 1.
Выводы: В растениях крапивы двудомной обнаружен новый баднавирус, названный «nettle badnavirus 1». Результаты работы расширяют список известных баднавирусов и дополняют список известных вирусов крапивы.
Финансирование: Исследование поддержано Российским научным фондом, грант № 23-16-00032, https://ias.rscf.ru/user/doc/a.w.p.2023.80.legacy/349702.

doi 10.18699/PlantGen-2025-145

Изучение репитома и хромосомной локализации сателлитных ДНК в геноме *Polemonium caeruleum* L.

О.В. Муравенко[1]*, О.Ю. Юркевич[1], А.Р. Семенов[1], Ф.М. Хазиева[2], А.И. Морозов[2], Ю.В. Кальнюк[1], Л.В. Земцова[1], С.А. Зощук[1], А.В. Амосова[1]

[1] *Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, Россия*

[2] *ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», Москва, Россия*

* *omur@eimb.ru*

Цель: Синюха голубая (*Polemonium caeruleum* L., Polemoniaceae) – многолетнее лекарственное растение, которое обладает широким спектром биологической активности. Геном этого ценного вида недостаточно изучен, поэтому целью данного исследования стало изучение репитома *P. caeruleum* и хромосомной организации выявленных сателлитных ДНК.

Материалы и методы: Изучен образец *P. caeruleum* L. сорта Лазурь, полученный из Всероссийского научно-исследовательского института лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР). На основе высокопроизводительного секвенирования по технологии BGI проведен биоинформатический анализ репитома *P. caeruleum* с применением программ RepeatExplorer, TAREAN и BLAST. На хромосомах образца сорта Лазурь впервые проведено FISH-картирование меченных флуорохромами олигонуклеотидных зондов, созданных на основе сателлитных ДНК (сатДНК), наиболее представленных в геноме.

Результаты: По данным биоинформатического анализа, репитома *P. caeruleum* мобильные элементы составляют большую часть повторяющейся ДНК. При этом из них 66% относились к мобильным элементам Класса 1 и 0,57% к мобильным элементам Класса 2. LTR-ретротранспозоны были наиболее распространенными мобильными элементами Класса 1, среди них суперсемейство Ty3-gypsy составляло 44,46%, а суперсемейство Ty1-copia – 19,25%. Небольшую часть генома составляли сателлитные ДНК (0,87%) и рибосомные ДНК (0,42%). С использованием TAREAN в репитомах исследуемых видов было выявлено 6 высокодостоверных сатДНК и 4 низкодостоверных сатДНК. FISH-картирование 45S рДНК и 5S рДНК, а также наиболее представленных сатДНК на метафазных хромосомах сорта Лазурь позволило нам впервые установить их хромосомную кластерную или кластерно-дисперсную локализацию. Обнаружены вариации в рисунках распределения изученных сатДНК на хромосомах в зависимости от степени конденсации метафазных хромосом. Тем не менее рисунки распределения кластеров сатДНК CL 67, CL 84, CL 90 позволили уточнить идентификацию пар гомологичных хромосом в кариотипе изученного образца синюхи голубой. Кроме того, в кариотипах некоторых растений сорта Лазурь выявлены хромосомные перестройки и обнаружены минорные полиморфные локусы 45S рДНК и 5S рДНК.

Выводы: FISH-картирование тандемных ДНК повторов на хромосомах изучаемого образца *P. caeruleum* продемонстрировало их специфичное распределение по хромосомам генома. При этом полиморфную локализацию на хромосомах продемонстрировали не только выявленные сатДНК, но и 45S рДНК и 5S рДНК. Результаты данного исследования важны для оценки внутривидовой генетической изменчивости синюхи голубой как ценного вида, который может быть введен в культуру в разных эколого-географических регионах, а также для последующего селекционного отбора новых сортов и форм.

Финансирование: Исследование поддержано Российским научным фондом в рамках проекта № 24-26-00187, https://rscf.ru/project/24-26-00187/.

doi 10.18699/PlantGen-2025-146

Разработка методологии спидбридинга подсолнечника

Т.Р. Муратов*, М.А. Самарина, В.Ю. Канунникова, М.С. Баженов, А.А. Лаппо, А.О. Блинков, М.Г. Дивашук

Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия

** temur-muratov@mail.ru*

Цель: Разработка протокола спидбридинга подсолнечника, способствующего значительному сокращению вегетационного периода данной культуры; апробация разработанного протокола на коллекции инбредных линий и гибридов; тестирование возможности совместного использование системы спидбридинга подсолнечника и маркер-ориентированной селекции.

Материалы и методы: Для разработки протокола спидбридинга подсолнечника использовали коммерческие гибриды F_1 Белфис, Авенжер и Суматра. Оценивали такие параметры, влияющие на сокращение вегетационного периода, как 1) интенсивность света (15 различных показателей интенсивности света от 200 до 1000 мкмоль/м^2/с на уровне горшков), 2) наличие дальнего красного света в спектральном составе; 3) объем субстрата (кассеты с размером ячеек 80 мл, горшки объемом 500 мл и горшки объемом 2000 мл); 4) различный тип субстрата и применение минерального питания (торф с постоянным внесением водорастворимого удобрения Акварин; торф с кокосовым субстратом и постоянным внесением водорастворимого удобрения Акварин; торф с вермикулитом и осмокотом); 5) различные подходы к сокращению генеративной фазы развития и преодоления послеуборочного покоя (эмбриокультура; принудительное высушивание семян с последующим преодолением покоя при 32 °С в течение 10 суток). На основании изученных факторов был разработан протокол спидбридинга подсолнечника, который был протестирован на 16 генотипах, отличающихся длиной вегетационного периода. Разработанный протокол был использован для тестирования возможности его использования с одновременным отбором по молекулярным маркерам на устойчивость к расе G заразихи (*Orobanche cumana* Wallr.) и гербицидам.

Результаты: По результатам протестированных параметров было обнаружено значительное влияние интенсивности света на сокращение вегетационного периода подсолнечника. Наименьшие показатели по количеству дней от посева до цветения наблюдали при интенсивности света на уровне высоты взрослых растений в диапазоне 1100–1150 мкмоль/м^2/с. Использование дальнего красного света привело к значительному сокращению периода от посева до цветения на несколько суток у некоторых генотипов. Однако дальний красный приводил к такому негативному в работе явлению, как удлинение междоузлий и утончение стеблей, что затрудняло их опыление и приводило к поломкам стебля при наливе семянок. Тестирование различного субстрата показало отсутствие разницы по количеству дней от посева до цветения между вариантами горшков 500 мл и 2000 мл. Использование кассет с размером ячеек 80 мл значительно, почти на месяц, удлиняло вегетационный период подсолнечника. Среди протестированных субстратов и вносимых подкормок наибольшее положительное влияние на физиологическое состояние подсолнечника показало использование торфа с осмокотом. Оба метода сокращения генеративной фазы развития и преодоления послеуборочного покоя показали свою эффективность. При введении семянок на 14–16-е сутки после окончания цветения в эмбриокультуру, уже через 10 суток было возможно переходить к новому циклу выращивания. Принудительное высушивание и снятие покоя тепловой инкубацией также позволяло быстро перейти к следующему поколению выращивания. Однако данный метод более продолжителен (почти на три недели) по сравнению с эмбриокультурой. Так, при использовании эмбриокультуры, в среднем по 16 генотипам на одно поколение уходит 70–80 суток, в то время как при использовании принудительного высушивания вегетационный цикл достигает 3 месяцев. На основе разработанного протокола была проведена работа по тестированию спидбридинга подсолнечника совместно с маркер-опосредованным отбором на устойчивость к расе G заразихи (*Orobanche cumana* Wallr.) и гербицидам. На растениях F_2, полученных от селекционных гибридов, созданных в результате скрещивания контрастных по устойчивости к заразихе и гербицидам генотипов, был произведен маркерный отбор и отобраны гомозиготные формы. На отобранных растениях производили изолирование и принудительное опыление корзинок. За 10 месяцев было получено три поколения растений. Семена, полученные от гибрида F_3, были переданы на дальнейшую селекционную доработку.

Выводы: Разработан протокол спидбридинга подсолнечника, позволяющий получать 4–5 поколений подсолнечника в год. Данный метод показал высокую эффективность в совместном использовании с маркерным отбором и создании инбредных линий для селекционной работы.

Финансирование: Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, государственное задание FGUM-2024-0002.

doi 10.18699/PlantGen-2025-147

Перезимовка растений озимой пшеницы в зависимости от осеннего развития при различных сроках сева в условиях Западной Сибири

К.К. Мусинов[1, 2], А.С. Сурначёв[1, 2], Н.Н. Ермошкина[1], А.В. Федяева[2]*
[1] *СибНИИРС – филиал ИЦиГ СО РАН, р.п. Краснообск, Новосибирская область, Россия*
[2] *Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия*
* *fedyaeva.anna@mail.ru*

Цель: Исследование было проведено с целью оценки влияния сроков посева на осеннее состояние и перезимовку растений озимой пшеницы.
Материалы и методы: В качестве объекта исследования использовались 5 сортов озимой мягкой пшеницы селекции СибНИИРС – филиал ИЦиГ СО РАН: Новосибирская 40, Новосибирская 3, Новосибирская 2, Краснообская озимая и Памяти Чекурова. Образцы оценивали в 2018–2022 гг. на полевом стационаре Сибирского НИИ растениеводства и селекции – филиала Института цитологии и генетики СО РАН (Новосибирская обл., пос. Краснообск). Посев проводился в три срока с учетной площадью делянки 10 м². Статистическая обработка экспериментальных данных проводилась с применением компьютерных программ Microsoft Office Excel и Snedecor.
Результаты: Достоверное влияние на изменчивость показателя перезимовка оказывали следующие факторы: год, срок, сорт, а также взаимодействие этих факторов. На изменчивость содержания сахаров в узле кущения озимой пшеницы достоверное влияние оказали такие факторы как срок, год и их взаимодействие. По всем сортам в среднем за исследуемый период количество побегов кущения находилось на уровне: 1-й срок – 6,2 шт.; 2-й срок – 3,9 шт.; 3-й срок – 2,0 шт. Больше всего сахаров в узле кущения накапливали растения третьего срока посева. Корреляционный анализ показал, что перезимовка озимой пшеницы находилась в достоверной зависимости от содержания сахаров в узле кущения, гидротермического коэффициента и среднесуточной температуры осеннего периода вегетации. Было отмечено, что содержание сахаров находилось в достоверной корреляции с высотой растений и коэффициентом кущения, гидротермическим коэффициентом, среднесуточной температурой, продолжительностью вегетации.
Выводы: Было выявлено, что на перезимовку озимой пшеницы оказывают влияние не только негативные условия зимы, но и условия осеннего роста и развития. Так, при раннем сроке посева растения лучше развиваются, но при этом тратят много сахаров необходимых для зимовки. Большее накопление сахаров было выявлено в растениях поздних сроков посева.
Финансирование: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 25-24-00117, https://rscf.ru/project/25-24-00117/.
Благодарность: Выращивание и оценка растений проводились на полевом стационаре Сибирского НИИ растениеводства и селекции – филиала Института цитологии и генетики СО РАН (Новосибирская обл., пос. Краснообск) в рамках бюджетного проекта ИЦиГ СО РАН № FWNR-2022-0018.

doi 10.18699/PlantGen-2025-148

Генетический профиль сортов пшеницы мягкой яровой, созданных в ФГБНУ «Омский АНЦ»

М.Е. Мухордова*, И.А. Белан, Н.П. Блохина, Я.В. Мухина, Н.С. Пугачева, Л.П. Россеева
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Омский аграрный научный центр», Омск, Россия
** mukhordova@anc55.ru*

Цель: С помощью ПЦР-анализа определить генетический профиль сортов пшеницы мягкой яровой при включении их в Госреестр РФ и РК, созданных в ФГБНУ «Омский АНЦ».
Материалы и методы: Материалом для исследований служили сорта, включенные в Госреестр РФ: Омская 42 – среднепоздний, сильный по качеству; Тарская юбилейная – среднеранний, ценный по качеству; Омская крепость и Омская 44 – среднеспелые, сильные по качеству; Сигма 5 (создан совместно с ИЦиГ СО РАН) – среднеспелый, ценный по качеству, а также сорта созданы в результате международного сотрудничества и включены в Госреестр РК: Семеновна и Омская 43 – среднеспелые и ценные по качеству. Предложены для испытания на ГСУ РФ – Омская крепость 5 – среднеранний, сильный по качеству, Омская 47 – среднеспелый, сильный по качеству. Переданы для испытания на ГСУ РК – Омская 44 и Омская 45 – среднеспелые и сильные по качеству.
Результаты: В лаборатории молекулярно-генетических исследований получен генетический профиль сортов, включенных в Госреестр и переданных для испытания на ГСУ РФ и РК, по генам устойчивости к бурой и стеблевой ржавчинам, аллелям генов фотопериода, короткостебельности и качества зерна. При идентификации генов устойчивости в генотипах этих сортов выявлены гены устойчивости к бурой ржавчине – *Lr19, Lr26, Lr37* и стеблевой ржавчине – *Sr25, Sr31, Sr32,* а гены резистентности бурой ржавчины – *Lr 9* и стеблевой ржавчины – *Sr36, Sr39, Sr47* в них не обнаружены. Однако все созданные сорта имеют ген стеблевой ржавчины *Sr 32*. У сортов, включенных в Госреестр РФ (Тарская юбилейная, Омская 42, Омская крепость, Сигма 5) и РК (Омская 43, Семеновна), выявлена пшенично-ржаная*1RS.1BL* (*Lr26/Sr31)* транслокация, а сорта Омская крепость и Сигма 5 обладают также и геном бурой ржавчины *Lr37.* Сорт Омская 44 характеризуется двумя транслокациями – пшенично-ржаной *1RS.1BL* (*Lr26/Sr31)* и пшенично-пырейной *7DL–7Ai* (*Lr19/Sr25).* В полевых условиях они проявляли высокую устойчивость к стеблевой ржавчине. Диагностика на наличие аллельных состояний локусов генов качества клейковины *Glu-1* по всем трем геномам у сортов выявлено присутствие аллелей высокомолекулярных субъединиц глютенина (ВМСГ), ассоциированных с высоким качеством зерна и набором аллелей *Glu-A1b, Glu-B1b и Glu-D1d* («идеальный профиль»), а также имели аллель *Rht8b*, что указывало на среднестебельность. У сорта Сигма 5 отсутствовал аллель *Glu-D1d*. Переданные на Государственное сортоиспытание РФ: сорт Омская 47 имеет пшенично-ржаную транслокацию *1RS.1BL* (*Lr26/Sr31*), соответствует идеальному профилю зерна *Glu-A1b, Glu-B1b и Glu-D1d,* аллель среднерослости *Rht8b;* у сорта Омская крепость 5 выявлена пшенично-ржаная транслокация *1RS.1BL* (*Lr26/Sr31),* аллель *Rht8c* и отсутствие аллеля *Glu-D1d*. Переданный на Государственное сортоиспытание в РК сорт Омская 45 при идентификации генов устойчивости, характеризовался двумя транслокациями – пшенично-ржаной *1RS.1BL* и пшенично-пырейной *7DL–7Ai,* тремя геномами аллелей высокомолекулярных глютенинов (*Glu-A1b, Glu-B1b и Glu-D1d),* среднерослый аллель *Rht8b.* Сорт Омская 42 имел пшенично-ржаную транслокацию *1RS.1BL*, аллель *Rht8a* – высокорослости, а аллель качества зерна Glu-B1b отсутствовал. Тест на фотонейтральность (ген *Ppd-D*1) показал, что во всех изученных сортах обнаружен аллель чувствительности к фотопериоду (*Ppd-D1b*). Прошедшие испытание в эпифитотийные к листостебельным патогенам 2016–2020 годы, сорта с одной транслокацией проявляли умеренную устойчивость к бурой ржавчине и высокую к стеблевой, а сорта Омская 44 и Омская 45 с двумя транслокациями проявляли высокую устойчивость как к стеблевой, так и бурой ржавчинам. К патогену мучнистой росы все сорта характеризовались средним уровнем устойчивости (ИУ = 0,36–0,65). По урожайности в изученные годы резистентные сорта превосходили стандарты на 0,5–1,1 т/га. При изучении сортов Омская 42, Тарская юбилейная, Омская крепость, Омская 43, Омская 45 и Омская крепость 2 в Международном Питомнике КАСИБ было показано, что в экологических точках, при поражении посевов стеблевой и бурой ржавчинами, эти сорта подтвердили высокую и умеренную устойчивость к листостебельным заболеваниям и по урожайности они превысили восприимчивые генотипы на 0,39–1,23 т/га.
Выводы: Был получен генетический профиль сортов, включенных в Госреестры РФ и РК и перспективных сортообразцов пшеницы мягкой яровой, созданных в ФГБНУ «Омский АНЦ».
Финансирование: Исследование выполнено при поддержке Минобрнауки РФ в рамках государственного задания ФГБНУ «Омский АНЦ». FNUN-2025-0002 «Создание доноров и гибридов с.-х. культур для совершенствования хозяйственно-ценных признаков сортов с использованием традиционного анализа и молекулярно-генетических методов».

doi 10.18699/PlantGen-2025-149

Корреляция сроков развития яровой мягкой пшеницы в контролируемой среде и поле как инструмент отбора на раннеспелость

Б.Б. Наджодов[1, 2]*, Т.Д. Мохов[1], А.Г. Черноок[1], А.А. Кочешкова[1], М.С. Баженов[1], М.Г. Дивашук[1]
[1] *Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия*
[2] *Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва, Россия*
* *boburnajodov@gmail.com*

Цель: Выявление корреляций в динамике развития яровой мягкой пшеницы в условиях спидбридинга (контролируемой среде, оптимизированной для получения нескольких семенных поколений в год) и в условиях полевого опыта; а также молекулярная идентификация аллелей генов фотопериодизма *Photoperiod* (*PPD*) и яровизации *Vernalization* (*VRN)* для выявления раннеспелых генотипов.

Материалы и методы: В исследовании использовали 43 генотипа яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), различающиеся по экологическому и географическому происхождению. В качестве контрольного сорта использовали раннеспелый сорт Злата селекции ФИЦ «Немчиновка». Эксперимент проводился в течение одного года. Посев в контролируемой условиях (спидбридинг) выполнен 21 февраля. Семена высевали вручную в трехкратной повторности, фотопериод 22 часа света / 2 часа темноты, температура 21 °С. Полив – ежедневный, с постепенным сокращением к фазе восковой спелости, подкормка – три раза в неделю. Посев в поле проводился 29 апреля, на Полевой опытной станции РГАУ–МСХА им. К.А. Тимирязева, площадь делянки – 1 м^2, повторность трехкратная, посев – кассетной сеялкой СКС-6-10. Агротехника общепринята для данной зоны. В обоих вариантах опыта были отмечены даты наступления фенологических фаз: посев, всходы, колошение, цветение, спелость. ДНК выделяли из листовой ткани по стандартному протоколу. Идентификацию аллелей генов *PPD* и *VRN* проводили методом ПЦР с использованием специфичных праймеров.

Результаты: В контролируемых условиях всходы появлялись на 2-й день после посева. В поле всходы задержались до 14-го дня из-за воздействия весенних заморозков, замедляющих рост и развитие. Вегетационный период в контролируемых условиях составил 45–55 дней, тогда как в полевых условиях он длился 85–100 дней в зависимости от генотипа. ПЦР-анализ 43 образцов яровой пшеницы выявил различия генотипов по аллелям *Ppd-A1* и *Vrn-A1*. Судя по гену *PPD-D1* три образца, оказались нечувствительными к фотопериоду *(имели аллель Ppd-D1a)*, три образца оказались гетерогенным, а остальные несли аллель, соответствующий восприимчивости к фотопериоду (*Ppd-D1b)*. По гену *PPD-A1*, все образцы несли рецессивный аллель, не изменяющий в данном случае фенотип восприимчивости к длине светового дня. Анализ гена *VRN-A1*, ключевого в регуляции яровизации, показал, что большинство исследованных генотипов содержат аллель доминантный *Vrn-A1* (яровой тип), что подтверждается способностью испытуемых образцов развиваться без яровизации. Однако у некоторых образцов были обнаружены также аллели *vrn-A1* озимого типа, что может указывать на их принадлежность к двуручкам. У нескольких образцов зафиксированы гетерогенными формы *Vrn-A1b*. Высокая вариабельность по *Vrn-A1* важна для селекционных программ, направленных на ускоренное создание скороспелых сортов. Корреляционный анализ сроков наступления фаз развития выявил сильную положительную связь между датами колошения в условиях спидбридинга и в полевых испытаниях (R = 0,877**), подтверждая стабильность этого признака. Раннеспелые сорта, такие как Злата, Ирень и Тризо, сохраняли свои характеристики независимо от условий среды. Корреляция сроков фазы цветения была менее выраженной (R = 0,42*), что указывает на более сильное влияние среды на наступление этого этапа развития. В условиях контролируемой среды генотипы Ирень и Тризо колосились на 34-й день (в поле – на 49–56-й день) опережая контрольный сорт Злата (35-й день в условиях спидбридинга). Позднеспелые сорта Симбирцит и Тобольская в условиях спидбридинга достигали колошения на 45-й день, и на 51–56-й день в поле. У тех же сортов цветение в условиях спидбридинга наступало через 38–43 дня, а в полевых условиях – на 51–56-й день. Контрольный сорт Злата зацвел на 40-й день в контролируемых условиях и 49-й день в поле. Самое раннее цветение отмечено у сортов Агата, Саратовская 74 и Тулайковская 108 (38–39-й день в контролируемых условиях, 51-й день в поле), тогда как Тобольская и Алтайская Жница характеризовались поздним цветением (43-й день в условиях спидбридинга, 52–56-й день в поле). Полученные результаты подтверждают высокую степень корреляции фенологических фаз между контролируемыми и неконтролируемыми условиями, что делает выращивание растений в условиях спидбридинга также инструментом для ускоренного отбора раннеспелых генотипов яровой пшеницы.

Финансирование: Работа выполнена при поддержке РНФ, № проекта 25-64-00021, https://rscf.ru/project/25-64-00021/.

doi 10.18699/PlantGen-2025-150

Вариации гена BTC1, контролирующего время цветения сахарной свёклы

А.А. Налбандян[1]*, Т.С. Руденко[1], Т.П. Федулова[1], И.В. Черепухина[1], Ю.В. Капак[2], В.Н. Мищенко[2]
[1] *ФГБНУ «ВНИИСС им. А.Л. Мазлумова», Воронежская область, п. ВНИИСС, Россия*
[2] *ФГБНУ Первомайская СОС, Краснодарский край, Гулькевичи, Россия*
* *arpnal@rambler.ru*

Цель: Изучение молекулярных вариаций гена *BTC1*. Выявление кандидатных SNP-маркеров, ведущих к изменениям функций гена.

Материалы и методы: В данном исследовании использованы растения 8 отечественных селекционно-ценных генотипов сахарной свёклы, отобранных на провокационном фоне (Первомайская СОС). Для проведения молекулярно-генетических экспериментов использовали зеленую массу сахарной свёклы. Тотальную ДНК выделяли STAB-методом. Классическую ПЦР проводили с использованием пары специфических маркеров F99/R99, сконструированной в программе Primer-Blast. В результате тестирования 8 селекционно-ценных образцов сахарной свёклы методом классической ПЦР с использованием данной пары праймеров у всех генотипов выявлен один ампликон размером около 800 п.н., что соответствует ожидаемой длине отрезка ДНК, который фланкируется данными олигонуклеотидами. Полученные ампликоны были проанализированы на генетическом анализаторе ГТЗ (Китай) по Сэнгеру.

Результаты: Среди генотипов, в которых обнаружен ожидаемый ПЦР-продукт, присутствуют как цветушные, так и нецветушные растения, так как ген *BTC1*, контролирующий работу двух генов цветения (*BvFT1 и BvFT2*) характерен для всех геномов рода *Beta*. Аллель *BTC1* присущ однолетним генотипам, а аллель *btc1* – двулетним. Результаты прочтения нуклеотидных последовательностей экзона 9 гена *BTC1* проанализированы в программе Geneious Prime (https://www.geneious.com/prime/). Сравнение нуклеотидных последовательностей рассмотренных генотипов с контрольной линией (GenBank № HQ709091.1 NCBI), устойчивой к цветушности, с двулетним циклом развития, выявило несколько SNP, характерных для цветушных генотипов. Так, в позиции 476 (по программе Geneious Prime) идентифицирована однонуклеотидная замена C/T, в позиции 542 выявлена замена G/A. Примечательно, что и у контрольного устойчивого генотипа (GenBank № HQ709091.1 NCBI), и у генотипа под номером 2, который позиционируется также как устойчивая форма, обнаружены в одинаковых позициях идентичные нуклеотиды. Генотип под номером 1, охарактеризованный селекционерами как цветушный, в данных позициях как раз содержит замены (T и A соответственно). Ниже приведен фрагмент аминокислотной последовательности белка гена *BTC1*, кодируемой экзоном 9, красным отмечены аминокислоты (изначальные и замещенные вследствие однонуклеотидного полиморфизма):

а) …PQENNVDQQL KIQRHHHYHH YDVHSVQQLP KVSVQHNM**S**K SKDVTAPPQC GSSNTCRSPI **K**ANVANCSLN GSGSGSNHGS NFLNGSSAAV NVEGTNMVND SRIAAKDGAE NGSGSGSGSG SGSGVGVDQS RSAQREAALN KFRLKRKERC FDKK

б) …PQENNVDQQL KIQRHHHYHH YDVHSVQQLP KVSVQHNM**P**K SKDVTAPPQC GSSNTCRSPI **E**ANVANCSLN GSGSGSNHGS NFLNGSSAAV NVEGTNMVND SRIAAKDGAE NGSGSGSGSG SGSGVGVDQS RSAQREAALN KFRLKRKERC FDKK

Из приведенной выше дедуктивной аминокислотной последовательности видно, что однонуклеотидная замена C/T в позиции 476 привела к замещению аминокислоты лизин (k) глутаминовой кислотой (e). SNP G/A в позиции 542 способствовала замене аминокислоты серин (s) на пролин (p). Данные однонуклеотидные полиморфизмы, следовательно, являются смысловыми (nonsynonymous), способствующие замене аминокислот в полипептидной цепи.

Выводы: В результате проведенного молекулярного-генетического анализа выяснилось, что в геноме исследованных генотипов содержится полноценный ген *BTC1*, контролирующий работу двух генов-кандидатов цветушности: *FT1* и *FT2*. Результаты секвенирования и выравнивания в экзоне 9 гена *BTC1* четырех селекционных номеров сахарной свёклы (*Beta vulgaris* L.) селекции Первомайской СОС (1, 3, 5, 6) показали два однонуклеотидных полиморфизма, характерные для цветушных генотипов. А генотипы под номерами 7 и 8 можно рекомендовать как материалы, устойчивые к цветушности. Проведенные молекулярно-генетические исследования имеют важную практическую значимость, так как позволяют в ранний период селекционного процесса тестировать и выбраковывать образцы, склонные к цветушности.

Финансирование: Исследование проводилось в рамках госзадания № 0453-2022-0005 – разработать методологию создания исходного селекционного материала сахарной свёклы (*Beta vulgaris* L.) с заданными признаками на основе постгеномных технологий.

doi 10.18699/PlantGen-2025-151

Анализ геномов органелл *Solanum hjertingii*

А.Ю. Некрашевич*, Е.В. Шруб, Е.А. Николайчик
Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь
** andrey.nekrashevich10@gmail.com*

Цель: Аннотация цитоплазматического генома, анализ филогенетических взаимоотношений *Solanum hjertingii.*
Материалы и методы: Секвенирование ДНК из клубней *Solanum hjertingii* проведено по технологии NGS, для отбора митохондриальных прочтений все чтения картировали на референсные последовательности митогенома *S. tuberosum cv. Désirée* (MN104801, MN104802 и MN104803) с помощью Minimap2 (v2.28), а картированные чтения извлекали в формате BAM с помощью SAMtools. Отобранные чтения использовали для сборки *de novo* с помощью Flye (v.2.9.5). Окончательная сборка получена ручным объединением и удалением контигов с использованием Bandage. Аннотация генома проведена с помощью PMGA (v 1.0). Микросателлитные повторы аннотировали с использованием MISA (v2.1). Диспергированные повторы с прямой и палиндромной связью аннотировали с помощью Vmatch (v2.3.0). Тандемные повторы аннотировали с использованием TRF (v4.09.1). Всего 13 ортологичных митохондриальных генов среди 20 видов извлекали и объединяли с помощью PhyloSuite (v.1.2.3). Последовательности выравнивали с использованием MAFFT (v7.505), затем эти выровненные последовательности были обрезаны вручную и использованы для построения филогенетических деревьев. Филограмма была построена с использованием MrBayes (v3.2.7.) на основании модели GTR+I+G. Для отбора пластидных прочтений все чтения сопоставляли с референсными последовательностями пластидного генома *S. hjertingii* (MK690623) с помощью Minimap2 (v2.28). Дальнейшую сборку проводили аналогично митохондриальной. Аннотация пластидного генома проведена с использованием CPGAVAS2 (v2.0). Аннотация повторов проводилась аналогично митохондриальным. Всего 18 ортологичных пластидных генов среди 20 видов извлекались, объединялись и выравнивались аналогично митохондриальным. Затем была построена филограмма с использованием MrBayes (v3.2.7.) на основании модели GTR+I+G.
Результаты: Получена сборка митохондриального генома *S. hjertingii,* состоящего из 3 хромосом общей длиной 456060 пар нуклеотидов, аннотирован 81 ген, а именно: 41 уникальный белок-кодирующий ген, 9 копий белок-кодирующих генов, 24 гена тРНК, из них 20 – уникальные и 7 генов рРНК, из них – 5 уникальные. Аннотированы повторы митохондриального генома, идентифицированы тандемные, прямые диспергированные и палиндромные диспергированные повторы, а также микросателлитные повторы. Микросателлиты представлены моно-, ди- и тримерными повторами; тетрамерные и пентамерные – отсутствуют. Обнаружено 128 прямых диспергированных и 122 палиндромных диспергированных повторов. Согласно проведенному филогенетическому анализу на основании полученной в ходе аннотации группы генов митохондрий филогенетически ближайшими видами для *S. hjertingii* являются *Solanum juzepczukii Solanum chacoense* и *Solanum okadae*. Получена сборка пластидного генома *S. hjertingii,* состоящая из одной хромосомы общей длиной 155 451 пара нуклеотидов, аннотировано 84 белок-кодирующих гена, 8 генов, кодирующих рРНК. Филограмма, построенная на основании группы пластидных генов, показала *S. juzepczukii* и *Solanum ahanhuiri* в качестве филогенетически ближайших видов.
Выводы: Получена полная сборка и аннотация геномов органелл *S. hjertingii*, филогенетически ближайшими видами по материнской линии на основании этих сборок, для *S. hjertingii* являются *S. juzepczukii, S. ahanhuiri*, *S. chacoense* и *S. okadae.* Ввиду близкой связи с *S. juzepczukii* установленной для двух сборок органелл данный вид, вероятно, является наиболее филогенетически близким по материнской линии из исследованных. Аллотетраплоидная природа данного вида осложняет филогенетический анализ и для определения точного происхождения данного вида требуется проведение полногеномного секвенирования и анализ последовательностей ядерного генома.
Финансирование: Исследование поддержано грантами Министерства образования РБ № 20241129 и БРФФИ № Б24М-035.

doi 10.18699/PlantGen-2025-152

Биологическая активность штаммов PGPR по фиксации атмосферного азота и солюбилизации неорганических и органических фосфатов

С.М. Нерсесян[1]*, В.С. Масленникова[1], Е.В. Шелихова[1, 2], К.А. Табанюхов[1, 2]
[1] *Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск, Россия*
[2] *ФИЦ фундаментальной и трансляционной медицины, Новосибирск, Россия*
* *smnersesyan@gmail.com*

Цель: Поиск штаммов продуцентов фосфатаз и нитрогеназ для улучшения питания и развития растений.

Материалы и методы: Объектом исследований являлись 60 штаммов микроорганизмов относящимся к родам *Azotobacter, Arthrobacter, Azospirillum, Pseudomonas, Paracoccus, Bacillus, Paenibacillus*, из коллекции лаборатории микробиологии Новосибирского государственного аграрного университета. Для оценки фосфатазной активности штаммов были применены микробиологические методы анализа, включающие посев на селективные питательные среды:

1) глюкозо-дрожжевой агар – источник фосфора K_2HPO_4 (фосфат калия) – неорганические фосфаты;
2) среда Пиковской – источник фосфора $Ca_3(PO_4)_2$ (фосфат кальция) – неорганические фосфаты;
3) среда Менкиной – источник фосфора лецитин – органические формы фосфорных соединений, с последующей оценкой зон растворения исследуемых веществ.

Измерения проводились на 3-и сутки роста.

Для определения азотфиксирующей активности микроорганизмов применялись культивирование штаммов на жидкой безазотистой среде Эшби и оценка концентрации свободного $NH4^+$ в питательной среде через 7 суток роста. Концентрация ионов аммония определялась при длине волны 410 нм методом спектрофотометрии с помощью планшетного спектрофотометра Thermo Scientific Varioskan LUX после реакции супернатанта культуральной жидкости проб с реактивом Несслера. Штаммы предварительно отбирались по наличию роста на агаризованной среде Эшби. Концентрацию катионов аммония рассчитывали по калибровочному графику.

Результаты: По разложению органических форм фосфатов на среде Менкиной с учетом величины зон растворения наиболее эффективными показали себя 4 штамма *Azotobacter* spp., 2 штамма *Paracoccus* spp., 4 штамма *Bacillus* spp., 2 штамма *Paenibacillus* spp., культура *Arthrobacter* sp. показала самую высокую активность растворения органических фосфатов с зоной растворения 2,2 см – 299 мг лецитина. Остальные культуры имели зона растворения в районе 1–1,4 см (от 60 до 120 мг лецитина).

Неорганический фосфор в форме фосфата калия растворялся под воздействием метаболитов штаммов в количестве от 60 до 247 мг K_2HPO_4 с зонами растворения 1–2 см соответственно. Неорганические фосфаты в форме фосфата кальция солюбилизировали только 3 штамма *Bacillus* spp., 1 штамм *Paracoccus* sp. и *Azotobacter* sp. Самую высокую активность показал штамм *Bacillus* sp. с зоной растворения 1,8 см или 200 мг $Ca_3(PO_4)_2$.

На агаризованной питательной среде Эшби полное отсутствие роста имели только 11 из 60 исследуемых штаммов, остальным 49 штаммам для начала роста было достаточно очень низких концентраций азота, который попал в среду вместе с агаром, использующимся для приготовления твердых сред. Активность фиксации атмосферного азота по определению накопленных в культуральной жидкости ионов аммония показала, что высокой азотфиксацией обладали 9 штаммов, из которых 4 принадлежали к роду *Azotobacter*, 2 к роду *Paenibacillus*, 2 к роду *Bacillus* и 1 к *Azospirillum*. Самую высокую азотфиксирующую активность проявил один из штаммов *Azotobacter* с 19 мг/л $NH4^+$, что является довольно высоким показателем по литературным данным, остальные же штаммы фиксировали намного меньшие количества азота, в 3 и более раз меньше, подобная азотфиксация является невысокой для свободноживущих диазотрофов.

Выводы: Микроорганизмы постоянно формируют симбиотические связи с растениями и в процессе своей жизнедеятельности влияют на состояние и развитие растения косвенно или напрямую множеством путей. Одними из путей являются азотфиксация и фосфатмобилизация, улучшающие питание и развитие растений. По исследуемым показателям фосфатмобилизации и фиксации азота из 60 были отобраны 14 штаммов для дальнейших исследований по оценке активности других ферментов и влиянию микроорганизмов на культуру кукурузы и иных растений.

Финансирование: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 25-26-00114, https://rscf.ru/project/25-26-00114/.

doi 10.18699/PlantGen-2025-153

Поиск и разработка маркеров к генам устойчивости к прорастанию на корню мягкой пшеницы

М.А. Нестеров*, А.А. Киселева, С.Д. Афонникова, А.В. Федяева, Е.А. Салина
Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
** mikkanestor@bionet.nsc.ru*

Цель: Устойчивость к прорастанию зерна на корню является хозяйственно важным признаком, который влияет на качество зерна и урожайность пшеницы. Данная устойчивость, с одной стороны, зависит от внешних факторов окружающей среды, а с другой – генетических и фенотипических особенностей сортов пшеницы. Ранее для изучения генетических механизмов формирования устойчивости к прорастанию на корню мягкой пшеницы нами было проведено ассоциативное картирование для идентификации SNP и локусов, ассоциированных с изучаемым признаком [1]. Данная работа направлена на разработку, верификацию и оценку эффективности маркеров для идентификации устойчивых к прорастанию на корню генотипов мягкой озимой пшеницы.

Материалы и методы: Исследование проводилось с использованием коллекции из 159 сортов озимой мягкой пшеницы, 127 растений популяции F_2 от скрещивания сорта «Безенчукская 380» (устойчивый к прорастанию зерна на корню) с сортом «Ермак» (неустойчивый) и выборки из 22 образцов озимой пшеницы, контрастных по изучаемому признаку.

Оценку индекса прорастания проводили на молочной/восковой стадии созревания зерна и стадии полной спелости образцов мягкой озимой пшеницы, как описано ранее [2].

Были заказаны KASP маркеры к 12 SNP (KS0117-763971, AX-94606697, wsnp_Ex_c10842-17637744, wsnp_BE497820B-Ta-2-1, Kukri-c8390-1102, AX-95172164, BS00094471-51, wsnp-RFL-Contig3790-4082085, AX-94469815, Kukri_c38732_246, Kukri_c109962_396, AX-158544327), ассоциированным с признаком прорастания на корню по результатам проведенного ранее GWAS анализа [1]. Дополнительно были заказаны KASP маркеры к известным генам предуборочного прорастания *TaSdr-B1* и *Vp1-B1*, и 18 KASP маркеров по данным, опубликованным в открытой печати.

ПЦР с использованием KASP маркеров проводилась по стандартному протоколу от производителя на амплификаторах QuantStudio 5 Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific, США) и 7500 Fast Real-Time PCR Systems (Thermo Fisher Scientific, США).

Результаты: При проверке KASP маркеров на коллекции из 159 сортов озимой мягкой пшеницы, выявлено три маркера (Kasp7D-wsnp-CAP8-rep-c9647-4198594, Kasp7B-RAC875-c1638-165, TaSdr-B1), определенные аллели которых значимо ассоциированы с устойчивостью прорастания на корню.

Из KASP маркеров, взятых в анализ для оценки популяции F_2, только один маркер Kasp7B-RFL-Contig124-558 выявлял полиморфизм между родительскими образцами и был значимо ассоциирован с различиями по индексу прорастания.

Различие контрастных по проявлению признака 22 образцов мягкой озимой пшеницы дискриминировало 6 маркеров: Vp1-B1-193, AX-158544327, AX-95172164, Kukri-c109962-396, wsnp-RFL-Contig3790-4082085, Kasp4A-wsnp-Ex-c16175-24619793.

Выводы: Показано, что для эффективного разделения генотипов мягкой озимой пшеницы по признаку устойчивости к прорастанию на корню, из 10 верифицированных маркеров, необходимо использовать не менее 7 маркеров.

Финансирование: Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 21-76-30003-П, https://www.rscf.ru/project/21-76-30003/.

Список литературы

1 Afonnikova S.D., Kiseleva A.A., Fedyaeva A.V., Komyshev E.G., Koval V.S., Afonnikov D.A., Salina E.A. Identification of Novel Loci Precisely Modulating Pre-Harvest Sprouting Resistance and Red Color Components of the Seed Coat in *T. aestivum* L. *Plants*. 2024;13:1309. doi 10.3390/plants13101309

2 Fedyaeva A.V., Afonnikova S.D., Afonnikov D.A., Smirnova O.G., Deeva V.N., Pryanishnikov A.I., Salina E.A. Biochemical, Genetic, and Grain Digital Evaluation of Soft Winter Wheat Varieties with Different Germination Index. *Russ J Plant Physiol*. 2024;71:56. doi10.1134/S1021443724604592

doi 10.18699/PlantGen-2025-154

Геномика устойчивости картофеля к пектобактериозам

Е.А. Николайчик[1]*, А.В. Колубако[1], Е.В. Шруб[1], А.Ю. Некрашевич[1], В.А. Козлов[2]
[1] *Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь*
[2] *Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству, Минская область, аг. Самохваловичи, Республика Беларусь*
* *nikolaichik@bsu.by*

Цель: Поиск генетических детерминант устойчивости и чувствительности к бактериальным патогенам рода *Pectobacterium* путем комплексного анализа генетических ресурсов диких видов картофеля.
Материалы и методы: Секвенирование генома выполнено по технологии длинных прочтений, сборка генома – с помощью Flye 2.9.5. Маскирование повторов проведено с использованием Repeatmasker 4.1.5, аннотация генома – с использованием Braker 3.0.8 с 8 раундами оптимизации Augustus 3.5. Взаимодействующие с эффектором DspE рецепторные протеинкиназы выявляли с помощью LexA-зависимой дрожжевой двухгибридной системы. Вирус-индуцированный сайленсинг генов (ВИГС) проводили с помощью вектора TRV2 и штамма *Agrobacterium tumefaciens* GV3101.
Результаты: Фитопатогены рода *Pectobacterium*, в условиях Беларуси прежде всего *P. versatile* и *P. atrosepticum*, вызывают «черную ножку» стеблей и мягкую гниль клубней картофеля и являются наиболее вредоносными бактериальными возбудителями заболеваний картофеля. Отсутствие сортов картофеля с существенной полевой устойчивостью к этим патогенам обусловлено, по крайней мере частично, слабым пониманием механизмов распознавания *Pectobacterium* spp. в растении-хозяине. Пектобактерии долгое время считались некротрофами, массово производящими экзоферменты для разрушения растительных клеток и подавления иммунитета. С помощью мутагенеза, сайленсинга, скрининга белковых взаимодействий и транскриптомных исследований мы выявили более сложную и динамичную природу молекулярных взаимодействий между пектобактериями и растениями-хозяевами. Ключевыми моментами таких взаимодействий в контексте устойчивости к патогену являются раннее распознавание растением основного эффекторного белка DspE и реорганизация гормональной сигнализации при контакте растения с патогеном. Коррекция аннотации референсного генома картофеля на основе транскриптомных данных позволила выявить неаннотированные гены биосинтеза абсцизовой кислоты и установить центральную роль этого гормона в обеспечении устойчивости к пектобактериям. Среди рецепторподобных киназ (RLK) растений семейства *Solanaceae*, включая дикие виды картофеля с недавно расшифрованными геномами, мы идентифицировали четыре RLK, взаимодействующих с DspE в дрожжевой двухгибридной системе. ВИГС ортологов трех RLK у оптимального для этой процедуры растения *Nicotiana benthamiana* показал их необходимость для развития некроза при заражении *P. versatile*, что предполагает возможность использования этих *RLK* в качестве *R*-генов в селекции на устойчивость.
В отличие от *N. benthamiana*, растения *S. tuberosum* устойчивы к вирусу TRV, что не позволяет использовать основанные на TRV векторы для проведения ВИГС у культурного картофеля. Оценка возможности использования процедуры ВИГС в качестве быстрой методики скрининга генных нокаутов на разных диких видах картофеля показала пригодность для этих целей *S. bulbocastanum* и *S. hjertingii*. Эти виды показали высокую устойчивость к заражению *Pectobacterium* spp., однако имели существенные недостатки для наших целей: низкую семенную продуктивность диплоида *S. bulbocastanum* и отсутствие информации о геномной последовательности *S. hjertingii.*
«Черновик» геномной последовательности *S. hjertingii* показывает размер более 1.4 млрд н. п. и подтверждает один из мексиканских диплоидных видов как источник генома B. Аннотация с последующим анализом протеома выявили гомологи охарактеризованных ранее рецепторподобных киназ, взаимодействующих с DspE, причем четко прослеживается 100%-е (или почти 100%-е) сходство ортологов этих RLK, кодируемых геномом B, с таковыми *S. bulbocastanum*. Для одной из этих RLK подтверждено взаимодействие с пектобактериальным эффектором в дрожжевой двухгибридной системе, а ВИГС ее гена характеризует его как ген чувствительности (*S*-ген) и перспективную мишень для геномного редактирования.
Выводы: Устойчивость растений картофеля к *Pectobacterium* spp. может быть достигнута с помощью DspE-специфических рецепторных киназ и контроля уровня абсцизовой кислоты.
Финансирование: Исследования поддержаны Министерством образования Республики Беларусь (проект № 20241129) и грантом БРФФИ № Б24М-035.

doi 10.18699/PlantGen-2025-155

Поиск бифункциональных 3-дегидрохинатадегидратазы/шикиматдегидрогеназ *Cornus sericea* L. на основе *de novo* секвенирования транскриптома

Е.Р. Никонорова*, Т.А. Кроль, Д.Н. Балеев
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», Москва, Россия
** gatiatulinaer@gmail.com*

Введение: Гидролизуемые танины (ГТ) – класс фенольных соединений растений, основной функцией которых является защита растений от абиотических и биотических стрессоров, таких как патогены, вредители и УФ-излучение. Однако механизм их синтеза и накопления в различных видах растений изучен слабо. Растения *Cornus sericea* L. накапливают большое количество ГТ, но в связи со сложностью их химической структуры и отсутствием данных секвенирования генома и транскриптома *C. sericea*, точный механизм синтеза ГТ не известен.

Цель: Целью данной работы было провести секвенирование, сборку *de novo* и анализ транскриптома *C. sericea*, в особенности бифункциональной 3-дегидрохинатадегидратазы/шикиматдегидрогеназы (ДХД/ШДГ), одного из ключевых ферментов синтеза ГТ.

Материалы и методы: Образцы молодых и зрелых листьев, незрелых плодов, бутонов и цветков *C. sericea* были собраны в июле 2024 г. в Ботаническом саду ФГБНУ ВИЛАР (Москва). Тотальную РНК извлекали с помощью набора RNeasy Mini Kit и обрабатывали турбо-ДНКазой. Концентрацию определяли с помощью Qubit RNA HS Assay Kit. Подготовку библиотеки для секвенирования нового поколения (NGS) проводили с использованием набора TruSeq Stranded mRNA (Illumina). Секвенирование проводили на платформе NovaSeq 6000, 2 × 101 п.н. (Illumina Technologies, Сан-Диего, США). Для подготовки библиотеки для нанопорового секвенирования (Oxford Nanopore Technologies, ONT) РНК была преобразована в кДНК с использованием набора для синтеза кДНК Mint с 20-25 циклами амплификации. Библиотеку готовили с использованием стандартного протокола для геномной ДНК с набором SQK-LSK114. Обработка ONT прочтений выполняли с помощью Guppy 6.5.7 и NTproc (https://github.com/shelkmike/NTproc/). Хвосты PolyA ONT прочтений удаляли с помощью cutadapt v.5.0 с параметром "-a A{100}". Демультиплексирование коротких ридов и обрезку адаптеров – с помощью Illumina bcl2fastq 2.20 и Skewer 0.2.2. Качество FASTQ анализировали с помощью FastQC для Illumina и NanoPlot для ONT. Сборку *de novo* выполняли с помощью trans2express (https://github.com/albidgy/trans2express), rnaQUAST и BUSCO (Benchmarking Unique Single Copy Orthologs) использовали для анализа качества сборки. Аннотацию проводили с помощью blastx с e-value 1e-10 и баз данных Uniprot и RefSeq. Анализы путей KEGG выполняли на сервере KAAS (https://www.genome.jp/tools/kaas/), GO – при помощи eggNOG-mapper. Картирование коротких и длинных прочтений на сборку транскриптома выполняли с помощью minimap2. ProtParam и InterProScan использовали для проверки потенциальной стабильности и функциональности изоформ ДХД/ШДГ.

Результаты: Окончательная сборка транскриптома состояла из 29124 транскриптов и 48139967 п.н. с самым большим транскриптом длиной 27663 п.н. По данным BUSCO, сборка транскриптома охватила 88.4% ортологичных генов из набора данных эвдикот (eudicots_odb10), 90.4% генов растений (viridiplantae_odb10) и 90.6% эукариотических генов (eukaryota_odb10), что характеризует ее как достаточно полную. При анализе GO данных только часть транскриптов (19 098 – 65,6%) была аннотирована, где 4555 транскриптов были функционально классифицированы как относящиеся к «биологическому процессу», 854 – к «клеточному компоненту», 2756 – «молекулярной функции». По данным анализа KEGG были аннотированы 8742 транскриптов. С помощью KEGG Mapper были реконструированы карты путей, из которых 3741 относились к метаболизму, 1876 – заболеваниям человека (что возможно, так как присвоение идентификаторов основано на ортологии, и многие из них имеются и у растений, и у животных), 1024 – к обработке генетической информации, 734 – к клеточным процессам, 706 – системам организма и 474 – к обработке информации из окружающей среды. После функциональной аннотации были определены 5 потенциальных изоформ ДХД/ШДГ, с длиной 500–532 аминокислот и предсказанной молекулярной массой от 54,3 до 57,8 кДа, причем для одной из изоформ был выявлен дополнительный минорный вариант за счет удержания интрона.

Выводы: Впервые проведены секвенирование, сборка *de novo* и функциональная аннотация транскриптома *C. sericea*. Идентифицированы 5 потенциальных изоформ ДХД/ШДГ.

Финансирование: Работа выполнена согласно государственному заданию по теме FGUU-2024-0001.

doi 10.18699/PlantGen-2025-156

Эффективные *Ut* гены в селекции яровой пшеницы на устойчивость к *Ustilago tritici* (pers.)

Е.А. Орлова*, Н.П. Бехтольд
СибНИИРС – филиал ИЦиГ СО РАН, р.п. Краснообск, Новосибирская обл. Россия
** Orlova.lena10@yandex.ru*

Пыльная головня пшеницы *Ustilago tritici* (Pers.) широко распространенное заболевание, встречается везде, где возделывается яровая мягкая пшеница. Одним из основных экологически безопасных способов борьбы с этим заболеванием является селекционно-генетический. Многие исследователи уделяли большое внимание специфической устойчивости пшеницы к данному патогену. Так A. Oort (1963) было доказано, что патосистема пшеницы и *U. tritici* соответствует концепции «ген на ген», что позднее было подтверждено в работах других исследователей. Такие работы необходимы для понимания природы генов резистентности растения-хозяина и эволюции новых рас патогена, которые преодолевают эти гены. J. Nielsen при изучении наследования вирулентности *U. tritici* идентифицировал 5 генов вирулентности – *utv1*, вирулентный сортам Renfrew, Florence/Aurore и Red Bobs; *utv2*, поражающий сорта Kota и Little Club; *utv3*, вирулентен сорту Carma; *utv4* поражающий Thatcher/Regent; и *utv5*, который поражает сорт Sonop. Известно, что расоспецифическая устойчивость определяется как полная невосприимчивость растений к одним расам и восприимчивость к другим. *Целью* наших исследований было изучить реакцию сортов с определенными генами устойчивости, внесенных в каталог генных символов R.A. McIntosh к различным расам головни.

Материалы и методы: Материалом исследований послужили сорта, вошедшие в «Каталог генных символов пшеницы»: *Ut1* – Florence/Aurore; Renfrew; Red Bobs; *Ut2* – Kota; Little Club; *Ut3* – Carma; *Ut4* – Thatcher/Regent; *Ut6* – AC Karma; AC Vista; *Ut11* – Sonop; *Ut4 Ut6 Ut8* – Glenlea. Для определения рас пыльной головни использовали два набора сортов-дифференциаторов – российский (ВИР) и канадский. Для заражения растений использовали новосибирскую популяцию пыльной головни, а также изоляты, собранные в питомнике КАСИБ, с образцов пшеницы, семена которых высланы с КурганНИИСХ (линия ПТ-311); Карабалыкский СХОС (Эритроспермум 79/07); Челябинский НИИСХ (Ильменская 2); СамарНИИСХ (линия 1616ae 14), также клон с Омской 36, собранный на полях Купино. Инокуляцию сортов-дифференциаторов популяцией осуществляли вакуумным методом (по методике ВИР), отдельными клонами – шприцом (метод Пульмана–Бевера).

Результаты: По результатам заражения российского набора сортов – дифференциаторов было установлено, что популяция пыльной головни яровой мягкой пшеницы за все годы исследований тестировалась как 66 раса, на канадском наборе раса не идентифицировалась. Иммунитет к 66 расе проявляли сорта Red bobs с геном *Ut1*; Sonop (*Ut11*) и Glenlea с генами устойчивости *Ut4 Ut6 Ut8*. Устойчивость сортов с геном *Ut1* у сорта Renfrew варьировала по годам 0–8,1%; у Floren/Aurore от 1,1 до 2,9%. Устойчивость сортов с геном *Ut6* не стабильна и колеблется от слабой восприимчивости до практической устойчивости. Гены *Ut2* (Kota, Little Club); *Ut3* (Carma); *Ut4* (Thatcher/Regent) не являются эффективными к новосибирской популяции. Таким образом, можно предположить, что в популяции патогена практически отсутствуют клоны с генами вирулентности *utv1*, *utv11*, а также биотипы, вирулентные сорту Glenlea, устойчивость которого контролируется генами *Ut4 Ut6 Ut8*.

Анализ реакции сортов на заражение изолятов, собранных в питомнике КАСИБ, показал, что ни один из изолятов не обладал вирулентностью к Renfrew; Floren/Aurore и Glenlea. 100% изолятов были вирулентны к сортам с генами *Ut2; Ut3; Ut4* и *Utx*. Сильную восприимчивость к изоляту с линии 1616ae14 показал сорт Red bobs, его поражение составило 80%. Только два изолята, собранные с линий ПТ-311 и 1616ae14 обладали вирулентностью к сорту Sonop с геном *Ut11*, на остальных отмечали реакцию невосприимчивости. Реакция сортов AC Karma и AC Vista с геном *Ut6* на инокуляцию изолятами была различной. Так AC Vista был высоко и практически устойчив ко всем изолятам, в то время как поражение сорта AC Karma варьировало от 0 (Ильменская 2) до 17,7% (ПТ-311).

Выводы: Таким образом, высокой эффективностью к пыльной головне обладают сорта с геном *Ut1* – Renfrew, Floren/Aurore, Red bobs, *Ut11* – Sonop, также сорт Glenlea, устойчивость которого контролируется тремя генами *Ut4 Ut6 Ut8*. Гены *Ut2*, *Ut3*, *Ut4*, и *Utx* не представляют интереса в селекции на устойчивость к пыльной головне яровой мягкой пшеницы.

Финансирование: Исследования поддерживаются бюджетным проектом FWNR-2022-0018.

doi 10.18699/PlantGen-2025-157

Ассоциация генов, контролирующих синтез крахмала, с основными признаками продуктивности у линий мягкой пшеницы с чужеродным генетическим материалом

О.А. Орловская*, К.К. Яцевич, Л.В. Милько, А.В. Кильчевский
Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь
** O.Orlovskaya@igc.by*

Цель: Потребность в пшенице ежегодно увеличивается на 1,7%, в то время как рост урожайности – только на 1,1%. В связи с этим, повышение урожайности зерна является актуальной задачей для обеспечения продовольственной безопасности. Крахмал является одним из основных компонентов сухого вещества зерна пшеницы, поэтому его содержание в значительной степени определяет размер и вес зерна. В коллекции интрогрессивных линий пшеницы и их родительских форм исследован полиморфизм 9 генов, контролирующих синтез крахмала, для выявления связи аллельных вариантов данных генов с признаками продуктивности в условиях Беларуси.

Материалы и методы: В коллекции из 10 сортов мягкой пшеницы, 5 образцов видов рода *Triticum* и 40 интрогрессивных линий, полученных на их основе, определен аллельный состав 9 генов, играющих важную роль в синтезе крахмала (*TaSus2-2A*, *TaSus2-2B*, *TaSus1-7A*, *TaSus1-7B*, *TaCWI-4A*, *TaCWI-5D*, *TaAGP-S1-7A*, *TaAGP-L-1B*, *TaBT1-6B*). Растения выращивали на экспериментальных полях Института генетики и цитологии НАН Беларуси в 2021–2024 гг. (Минск). Статистическую обработку данных осуществляли в программных пакетах Statistica 10.0.

Результаты: В среднем за четыре года продуктивная кустистость и масса 1000 зерен у интрогрессивных линий составила 2,94 шт. и 38,51 г соответственно, что значимо выше, чем у сортов (2,87 шт. и 36,91 г соответственно). Число зерен с колоса у линий с чужеродным генетическим материалом, напротив, было меньше по сравнению с сортами (41,11 и 43,25 шт. соответственно).

Значимая связь с массой 1000 зерен выявлена для всех изученных генов за исключением *TaSus2-2A*. Ассоциация с признаками «число зерен с колоса» и «продуктивная кустистость» показана главным образом для генов, кодирующих фермент сахарозосинтазу (*TaSus2-2A*, *TaSus2-2B*, *TaSus1-7A*). В нашей коллекции подавляющее большинство генотипов имело благоприятные гаплотипы генов *TaSus2-2A* (*Hap-A*), *TaSus1-7B* (*Hap-T*), *TaCWI-4A* (*Hap-4A-C*) и *TaCWI-5D* (*Hap-5D-C*), *TaBT1-6B* (*Hap2*), что объясняется доминированием данных гаплотипов во всех регионах мира, выращивающих пшеницу. Количество генотипов с *Hap-H* гена *TaSus2-2B* (16,4%) было значительно меньше, чем с неблагоприятным *Hap-L* (83,6%), что подтверждается данными литературы, согласно которым направленный отбор по *Hap-H* типу характерен для сортов китайской селекции, но не мировой. Частота встречаемости благоприятных гаплотипов у сородичей пшеницы, как правило, была незначительно меньше, чем у сортов, у интрогрессивных линий – была на уровне сортов. Можно отметить, что у образца *T. kiharae* выявлен гаплотип *Hap-4A-T TaCWI-4A*, ассоциированный с высокой массой 1000 зерен, в то время как у остальных родительских генотипов – *Hap-4A-C*, ассоциированный с высоким числом зерен в колосе. У всех генотипов выявлены благоприятные гаплотипы генов *TaAGP-L-1B*, *TaCWI-5D* и *TaSus1-7B*, однако сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей полиморфных участков данных генов показал, что образцы родственных видов отличаются от сортов мягкой пшеницы. У *T. dicoccum*, *T. dicoccoides*, *T. kiharae* в этих генах обнаружены однонуклеотидные полиморфизмы, а у *T. kiharae,* кроме того, в 11 интроне *TaSus1-7B* – новая инсерция. Полиморфные варианты установлены главным образом в промоторе *TaAGP-L-1B*, интронных областях *TaCWI-5D* и *TaSus1-7B* и могут приводить к изменению экспрессии генов.

Выводы: В коллекции интрогрессивных линий пшеницы и их родительских форм исследован полиморфизм 9 генов, играющих важную роль в синтезе крахмала. Полиморфизм не обнаружен только для генов *TaCWI-5D* и *TaAGP-L-1B*. Установлен значимый вклад генов *TaSus2-2B*, *TaSus1-7A*, *TaCWI-4A*, *TaAGP-S1-7A*, *TaBT1-6B* в изменчивость массы 1000 зерен; *TaSus2-2A*, *TaSus1-7A*, *TaCWI-4A* – числа зерен с колоса; *TaSus2-2A* и *TaSus2-2B* – продуктивной кустистости. Частота встречаемости благоприятных гаплотипов у сородичей пшеницы незначительно уступала таковой у сортов, у интрогрессивных линий – была на уровне сортов. Включение чужеродного генетического материала в геном пшеницы не оказало отрицательного влияния на основной показатель продуктивности – массу 1000 зерен, которая в среднем за четырехлетний период у интрогрессивных линий была достоверно выше, чем у сортов.

Финансирование: Исследование поддержано проектом 2.10.2 ГПНИ «Биотехнологии-2».

doi 10.18699/PlantGen-2025-158

Роль различных доменов *MtWOX9-1* в стимуляции соматического эмбриогенеза у *Medicago truncatula*

Д.Б. Павлова[1]*, Е.П. Ефремова[1], В.Е. Творогова[1, 2], Л.А. Лутова[1, 2]
[1] *Лаборатория генной и клеточной инженерии растений, кафедра генетики и биотехнологии СПбГУ, Санкт-Петербург,Россия*
[2] *Научный центр генетики и наук о жизни, Научно-технологический университет «Сириус», федеральная территория «Сириус», Краснодарский край, Россия*
* *db_pavlova@mail.ru*

Цель: Ранее было показано, что *MtWOX9-1*, ген из семейства *WOX*, является индуктором соматического эмбриогенеза у *Medicago truncatula*. В рамках текущего исследования мы поставили перед собой цель оценить роль различных доменов MtWOX9-1 в стимуляции соматического эмбриогенеза.
Материалы и методы: В нашей работе были получены конструкции для сверхэкспрессии гена *MtWOX9-1* с потерей участков, кодирующих четыре разных домена белка MtWOX9-1, с помощью ПЦР с удлинением перекрывания. Для проверки эффективности стимуляции соматического эмбриогенеза проводили трансформацию эксплантов *M. truncatula* согласно протоколу трансформации с использованием *Agrobacterium tumefaciens*. В качестве положительного и отрицательного контролей использовались конструкции для сверхэкспрессии полноразмерного варианта гена *MtWOX9-1* и гена *GUS* соответственно. Трансформация проводилась с использованием неэмбриогенной линии *M. truncatula* 108-1.
Результаты: Получены конструкции для сверхэкспрессии всех изучаемых вариантов усеченного гена *MtWOX9-1*: без С-терминального, срединного, N-терминального доменов и без гомеодомена. Была проведена оценка возможности индукции соматического эмбриогенеза у неэмбриогенной линии 108-1 с помощью сверхэкспрессии усеченных вариантов *MtWOX9-1*, кодирующих белки с потерей С-терминального и срединного доменов, а также полноразмерного варианта *MtWOX9-1*. Планируется проведение аналогичной трансформации на линии R108, способной к соматическому эмбриогенезу.
Выводы: Получены векторы для сверхэкспрессии вариантов гена *MtWOX9-1* с потерей участков, кодирующих четыре различных домена этого белка. Проведена трансформация эксплантов *M. truncatula* линии 108-1. Планируется повтор эксперимента на эмбриогенной линии R108.
Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ № 25-26-00218.

doi 10.18699/PlantGen-2025-159

Значение растения эйхорния в очистке сточных вод Туркменистана

Я.З. Палязова*, С.А. Балтаева, О.Я. Гурбанова
Туркменский сельскохозяйственный институт, Дашогуз, Республика Туркменистан
** yangilnonnazikjemal@gmail.com*

В условиях Туркменистана, где вопросы управления водными ресурсами и охраны окружающей среды приобретают особое значение, эффективные методы очистки сточных вод становятся приоритетными задачами. Одним из возможных решений является использование природных способов очистки, таких как водные растения. Эйхорния, известная своей способностью очищать воды, является перспективным растением для этих целей. Эйхорния (*Eichhornia crassipes*) – водное растение, которое широко используется для очищения водоемов в различных странах мира. Эйхорния способна абсорбировать загрязняющие вещества, включая органические и неорганические вещества, что делает ее ценным компонентом в очистке сточных вод.

Эйхорния очищает воду через несколько механизмов:

1. Физическое поглощение загрязняющих веществ: корневая система растения активно поглощает органические вещества и микроэлементы из воды.
2. Химическая абсорбция: эйхорния способна абсорбировать тяжелые металлы и токсичные химические соединения.
3. Биологическое очищение: растение способствует биодеградации органических веществ, улучшая общий химический состав воды.

Преимущества использования эйхорнии:

1. Низкая стоимость: эйхорния может быть легко выращена и использована для очистки сточных вод без значительных затрат.
2. Высокая эффективность: растение способно очищать большие объемы воды, улучшая качество воды в водоемах.
3. Экологическая безопасность: эйхорния не требует использования химических веществ, что делает ее экологически чистым способом очистки.

Применение эйхорнии в других странах. В разных странах мира успешно применяется эйхорния для очистки сточных вод. Например, в Индии и Китае используются специальные водоемы, в которых культивируется эйхорния для очистки воды в городской и сельской местности. Эти проекты показали высокую эффективность растения в улучшении качества воды и снижении загрязнения.

Использование эйхорнии в Туркменистане. Туркменистан сталкивается с рядом экологических проблем, связанных с недостаточным качеством воды и загрязнением водоемов. Эйхорния может стать эффективным решением для очистки сточных вод в стране. В условиях ограниченных водных ресурсов и необходимости защиты экосистем реки Амударья, Копетдага и других водоемов, использование эйхорнии для очищения сточных вод может существенно улучшить экологическую ситуацию.

Для внедрения эйхорнии в систему водоочистки в Туркменистане необходимо:

1. Исследование климатических условий для определения наиболее эффективных методов выращивания растения в стране.
2. Создание пилотных проектов в небольших водоемах и сточных системах для демонстрации эффективности этого метода.
3. Разработка экологических стандартов для регулирования использования эйхорнии в очистных системах.

Заключение: Эйхорния представляет собой эффективное и экономически выгодное решение для очистки сточных вод, которое может быть успешно внедрено в Туркменистане. Использование этого растения для очистки водоемов и сточных вод позволит улучшить качество воды, снизить загрязнение и способствовать устойчивому развитию водных экосистем. Для достижения максимальной эффективности необходимо провести дополнительные исследования и разработать конкретные проекты по использованию эйхорнии в стране.

doi 10.18699/PlantGen-2025-160

О гетерозисе и доминировании полигенных признаков у гибридов F1 картофеля в горной зоне Таджикистана

К. Партоев*, М.М. Курбонов, А.С. Наимов
Институт ботаники, физиологии и генетики растений Национальной кадемии наук Таджикистана, Душанбе, Республика Таджикистан
** pkurbonali@mail.ru*

Гетерозис – явление более мощного развития гибридов первого поколения по сравнению с родительскими формами – линиями и сортами и термин гетерозис был предложен Шеллом в 1914 г., но явление более мощного развития гибридов по сравнению с родительскими формами у многих видов растений было описано Дарвином в 1862 г.

При скрещивании организмов с разной наследственностью, происходит биохимическое обогащение гибрида, у него усиливается обмен веществ, что и вызывает проявление гетерозиса. Характеризуются три типа гетерозиса у растений: репродуктивный (цветков и соцветий); соматический (стеблей, побегов, листьев, клубней, корнеплодов) и адаптивный (зимостойкости, засухоустойчивости, скороспелости).

Как известно, гетерозис у картофеля проявляется в тех случаях, когда потомство превосходит лучшего родителя или среднюю для обоих родителей. Наследование гетерозиса у картофеля обусловлено малыми генами или побочными эффектами главных генов. Их совместное действие может проявляться аддитивным (ОКС) или неаддитивным (СКС) способом. Решение проблемы повышения эффективности селекции картофеля, видится в сочетании традиционных и новых генетических подходов и успех селекции в наибольшей степени зависит от разнообразия исходного материала, с хозяйственно полезными признаками и другими биологическими свойствами.

В связи с этим, нами была проведена гибридизация картофеля в условиях горной зоны нашей республики для получения гибридов картофеля и изучения особенности проявления сила гетерозиса у гибридов.

Сообщается, что для получения гибридов F_1 в горной зоне (в Ляхшском районе на высоте 2700 м над уровнем моря) в течение 2020–2023 гг. были проведены прямые и обратные внутривидовые скрещивания различных сортов картофеля. Через 40–50 дней сформировавшиеся гибридные ягоды картофеля собрали и получали гибридные семена (F_0). Внутривидовые гибриды картофеля F_1 (*Solanum tuberosum* L.), полученные нами, были изучены в условиях горной зоны в условиях Файзабадского (2500 м над уровнем моря) и Ляхшского районов (на высоте 2700 м над уровнем моря) в селекционных питомниках. Агротехника выращивания гибридов картофеля состояла из выращивания семян в бумажных стаканчиках в перепревшем навозе и пересадки их рассады, когда рост их достигал высоты15–20 см в открытый грунт по схеме посадки 50 × 20 см. В течение вегетации гибридов и родительских форм провели все агротехнологические работы (междурядной обработки, подкормки, поливы). У гибридов картофеля и родительских форм в течение вегетации определены особенности роста и развития растений, гипотетический, истинный гетерозис и коэффициент доминирования признаков. Установлено, что по такому важному полигенному признаку, как масса 1000 шт. семян у гибридов F_1 картофеля наблюдается гипотетический ($Г_{гип}$), истинный ($Г_{ист}$) гетерозис и доминирования (Н). У десяти вариантов, проведенных внутривидовых гибридных скрещиваний картофеля, гипотетический гетерозис имел варьирование 13.19–72.89%, истинный гетерозис – 12.92–58.69% и коэффициент доминирования (Н) – 3.8–63.5, что свидетельствует о большом спектре варьирования этих полигенных признаков среди популяции гибридов F_1 картофеля в горной зоне Таджикистана.

Таким образом, в условиях горной зоны Таджикистана на высоте более 2700 м над уровнем моря завязываемость гибридных ягод при внутривидовом скрещивании составляет 10–80%. В горной зоне у гибридов F_1 картофеля, полученных от внутривидовых скрещиваний по признаку массы 1000 шт. семян наблюдаются высокие показатели по гипотетическому и истинному гетерозису, а также по коэффициенту доминирования, что имеют важное значения в селекционно-генетических работах в будущем.

doi 10.18699/PlantGen-2025-161

О достижениях селекции и биотехнологии картофеля в Таджикистане

К. Партоев*, М. Курбонов, А. Наимов, У. Алиев
Институт ботаники, физиологии и генетики растений Национальной кадемии наук Таджикистана, Душанбе, Республика Таджикистан
** pkurbonali@mail.ru*

Цель: На основе использования методов селекции и биотехнологии получение новых перспективных гибридов/клонов и сортов картофеля в условиях Таджикистана. **Материалы и методы:** Материалом для проведения исследований послужили элитные и сортовые семенные клубни (I–II семенной репродукции) различных сортов, гибридов и клонов картофеля (*Solanum tuberosum* L.) коллекционного материала Института ботаники, физиологии и генетики растений Академии наук Республики Таджикистан (ИБФиГР НАН Таджикистана), ФГБНУ «ФИЦ картофеля им. А.Г. Лорха», Всероссийского института растениеводства им. Н.И. Вавилова (ВИР) и селекционные материалы в виде пробирочных растений и гибридных семян F_1, полученных из Международного Центра Картофеля (СИП, Перу, 2005 г.). Экспериментальные работы по скрещиванию сортов картофеля и изучению селекционного материала проводились в течение 2005–2020 гг. в условиях высокогорья (Ляхшский район, на высоте более 2700 м над уровнем моря) и в условиях лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии Института ботаники, физиологии и генетики растений НАН Таджикистана (840 м над уровнем моря). При выращивании гибридов картофеля использовалась общепринятая в горной зоне агротехника. В конце вегетации на основе визуальной оценки растений по признакам отсутствия поражения грибных, бактериальных и вирусных болезней на стеблях, листьях и клубнях, оценки компактность гнезд, количество клубней, глубину глазков, размер столонов, окраску клубней, продуктивность кустов, лежкость клубней при хранении, выделены ценные генотипы картофеля. Выделенные клоны среди популяции гибридов/клонов F_1 и $F_1C_{1–10}$ были изучены в селекционных питомниках в сравнении с родительскими формами.
Результаты: Изучались особенности роста, развития и продуктивность перспективных гибридов/клонов и сортов картофеля в условиях высокогорья, которые получены посредством сочетания методов традиционной селекции и биотехнологии картофеля. В экспериментах нами установлено, что частота полезных клоновых отборов среди популяции гибридов F_1 картофеля, составляет от 4.76 до 20%. В течение 2006–2020 гг. путем ускоренного размножения методом биотехнологии в условиях лаборатории (*in vitro*), в теплицах и в открытом, чистом от переносчиков вирусной инфекции поле (*in vivo*), в горной зоне, на высоте 2700 м над уровнем моря, он был протестирован в селекционных питомниках. Ускорения селекционного процесса добились микрочеренкованием пробирочных растений в условиях in vitro, посадкой пробирочных растений и микроклубней в условиях световой комнаты, теплицы и в открытом поле (*in vivo*). Путем размножения пробирочных растений и микроклубней в условиях световой комнаты в осенне-зимний – весенний период, нам удалось в два раза сократить сроки изучения и накопления селекционного материала. На основе сочетание методов традиционной селекции и биотехнологии получен новый сорт картофеля «Таджикистан», который превышает другие сорта картофеля на 30–40%. Этот новый сорт картофеля сейчас в разных картофелеводческих хозяйствах республики выращивается на площади более 10 тыс. га. Данный сорт был изучен в полевых условиях разных горных районов республики (Файзабад, Ляхш, Девештич, Муминабад, Горная Мастча, Ховалинг, Рушан, Рашт, Шахристан и др.). Сорт «Таджикистан» успешно проходил Государственное сортоиспытание и районирован в 2015 г. (патент № 126 от 15.04.2015). Сорт высокорослый, длина стебля достигает 100–120 см, многолистный, листья темно-зеленного цвета. Формирует мало цветков, окраска цветков фиолетовая, продолжительность цветения короткая. Сорт имеет малое формирование ягод и малый их размер. Клубни имеют округло-овальную форму, красную окраску и хорошие вкусовые качества. Окраска мякоти желтая, с фиолетовым оттенком. Глубина расположения глазков поверхностная. Окраска глазков и ростков фиолетовая. Сорт является среднепоздним. На одно растение формируется по 9–12 шт. клубней, урожайность высокая, она достигает до 35–40 т с гектара. Кожура клубней нежная, лежкость клубней при хранении хорошая. Сорт устойчив к вирусному скручиванию листьев (вирусу L), фузариозному увяданию, макроспориозу и другим, бактериальным и грибковым заболеваниям. В клубнях сорта «Таджикистан» в два–три раза больше содержится железы, столь необходимого от заболевания анемии у людей (Авторы сорта: Партоев К., Алиев К., Наимов С.Н., Давлятназарова З.Б., Назарова Н.). Определено, что в условиях горной зоны между признаками количества клубней, массой одного клубня и продуктивности растений, существует положительная коррелятивная связь ($r = 0.876$), а между количеством клубней на одно растение и массой одного клубня отрицательная корреляция ($r = –0.673$). В настоящее время нами ведется селекционная доработка этих гибридов с целью использования их в скрещивании и передачи на Государственное сортоиспытание для оценки в разных зонах возделывания.
Заключение: В условиях Таджикистана картофель является ценной сельскохозяйственной культурой, а отрасль картофелеводства играет важную роль в обеспечении продовольственной безопасности страны. Таджикским ученым благодаря сочетания методов класической селекции и биотехнологии получен новый перспективный сорт картофеля «Таджикистан», урожай которого составляет 35–40 т/га, что на 30–40% больше по сравнению с другими сортами картофеля. Новый сорт картофеля – «Таджикистан» сейчас выращивается на площади более 10 тыс. га в разных картофелеводческих хозяйствах Республики.

doi 10.18699/PlantGen-2025-162

Скороспелость и продуктивность – основные генетические признаки у пшеницы в условиях Таджикистана

К. Партоев*, Б.Н. Сатторов
Институт ботаники, физиологии и генетики растений Национальной академии наук Таджикистана, Душанбе, Республика Таджикистан
** pkurbonali@mail.ru*

Цель: Создание скороспелых и урожайных гибридов и сортов пшеницы в условиях Таджикистана на основе использования местных атаптивных к агроэкологическим условиям генотипов.
Материалы и методы: В качестве исходного материала использованы коллекционные образцы пшеницы, которые составили из семян материалов, собранных сотрудниками лаборатории генетики и селекции растений НАН Таджикистана в течение 2001–2015 гг. В этот период среди местных образцов пшеницы выделялись многие новые формы, которые характеризуются скороспелостью и устойчивостью к высокой температуре воздуха в течение вегетации. Посевы коллекционных образцов провели в два срока сева: осенью (в октябре, ноябре) и летом (июль). Особенно ценными были растений, выделенных среди местного образца пшеницы «Сурхаки махали» («Местная красная»). Выделенные образцы среди этого ценного образца нами изучены в течение 2019–2024 гг. на экспериментальном участке Института ботаники, физиологии и генетики растений НАН Таджикистана. Посев семян осуществляется по рядковой схеме, с расходом семян 200 кг/га (расчетный). Образцы пшеницы подкармливали путем разбрасывания аммиачной селитры (NH_4NO_3) по растущим растениям вручную рано весной. Опыты проведены на орошаемых землях, и в течение вегетации провели 4–5 раз поливов (при осеннем сроке сева) и 7–8 раз (при летнем сроке посева). Все фенологические учеты и наблюдений провели во время вегетации образцов пшеницы. В лаборатории проведены структурный анализ образцов пшеницы на основе пробных снопов растений. В опытах густота стояния растений составила примерно 3 млн растений на гектар. Для проведения летного посева были использованы зерно из свежеубранного урожая образцов пшеницы (от осеннего посева).
Результаты: В результате селекционных работ по сбору и изучению коллекционного материала пшеницы учеными Института ботаники, физиологии и генетики растений Национальной академии наук Таджикистана в последние годы получены ценные генотипы с признаками скороспелости, высокой продуктивности и устойчивости к болезням и вредителям. Особенно ценным является новая ультраскороспелая форма пшеницы, которую можно высевать осенью и летом в условиях Гиссарской долины Таджикистана (на высоте 840 м над уровнем моря). Эта новая форма пшеницы за один вегетационный год (с осенью к осени) на орошаемых землях обеспечивает за два укоса получению около 9 т/га урожая качественного зерна. Данная полученная новая ценная линия пшеницы, выделена из популяции местного стародавнего образца пшеницы «Сурхаки махали» («Местная красная»), который ранее размножался с давних времен на полях фермеров в горных районов республики (на высоте 1500–2000 м над уровнем моря) и акклиматизирован к агроэкологическим условиям местности. Проведенные исследования показали, что все морфологические, а также хозяйственно полезные признаки новой линии пшеницы от осеннего срока посева значительно превышают признаки растений от летного срока посева (в пределе 11.33 до 25.41%). Это свидетельствует о том, что при осеннем сроке посева растений обеспечиваются больше водно-питательными ресурсами, чем растений пшеницы от летного срока посева. Следует отметить, что в условиях Гиссарской долины благодаря генетическому признаку скороспелости у новой формы пшеницы «Летняя» («Тобистона») в течение года можно вырастить два урожая пшеницы и тем самым довести валовый сбор зерна до 9 т/га в год.
Выводы: Благодаря целенаправленной селекционной работы нами получена новая линия пшеницы – «Летняя», от посева которой в условиях Гиссарской долины Таджикистана (на высоте 840 м над уровнем моря) в течение года на орошаемые земли можно получить два урожая зерно и довести сбора до 9 т/га, что очень важно для увеличения валового сбора пшеницы на орошаемых землях республики в будущем и тем самым способствовать улучшению продовольственной безопасности в Таджикистане.

doi 10.18699/PlantGen-2025-163

Новые подходы для профилактики бактериальных заболеваний сельскохозяйственных растений с использованием инновационных наноструктурируемых биосовместимых веществ

А.И. Перфильева
Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия
** alla.light@mail.ru*

Комплексы, состоящие из наночастиц (НЧ) и полимерных молекул, – нанокомпозиты (НК) применяются в различных отраслях народного хозяйства. Нанокомпозиты имеют небольшие размеры НЧ, увеличенное количество НЧ на единицу полимерной матрицы, что приводит к высокой удельной поверхности и, соответственно, повышению биологической активности.

Цель: Изучить биологическую активность химически синтезированных нанокомпозитов на основе НЧ металлов и халькогенов для разработки новых ростостимуляторов растений.

Материалы и методы: В исследовании применялся ряд агротехнических, физиолого-биохимических, микробиологических методов, а также методы микроскопии.

Результаты: Синтезированы и исследована биологическая активность ряда различных НК на основе НЧ Se, НЧ Ag, НЧ Mn, НЧ Cu, упакованных в природные полимерные матрицы (каррагинан, Ar, крахмал, гуминовые вещества). Выявлено, что эти агенты в конечной концентрации 0,000625% НЧ снижают жизнеспособность фитопатогенной бактерии *Clavibacter sepedonicus* (*Cms*), вызывающей кольцевую гниль картофеля, а также фитопатогенной бактерии *Pectobacterium carotovorum* subsp. *Carotovorum* (*Pcc*), поражающей широкий круг культурных растений. Согласно полученным данным НК на основе НЧ Se, Ag, Cu, Mn оказывали бактерицидный, бактериостатический и антибиопленочный эффекты на исследуемые фитопатогенные бактерии. НК на основе НЧ Se прикрепляются к клеточной стенке *Cms*, вызывая нарушение трансмембранного потенциала клетки, ведущего к гибели бактерий. НК на основе НЧ Mn способны вызывать деформацию бактериальной клетки и разрывы ее клеточной стенки. Кроме того, селенсодержащие НК были эффективны против фитопатогенных грибов р. *Phytophthora*, они оказывали выраженное фунгицидное воздействие на гриб. Показано, что в применяемых концентрациях, обладающих антимикробным эффектом, НК стимулируют рост и развитие картофеля *in vitro*, как здорового, так и зараженного *Cms*. Влияние НК проявлется как в эффекте на биометрические характеристики растений *in vitro*, так и на биохимический статус растений (содержание пигментов, количество АФК, активность АОФ и интенсивность ПОЛ). Выявлен эффект нанопрайминга селенсодержащих НК на прорастание семян культурных растений (соя, горох, картофель). Продемонстрировано, что селенсодержащие НК способны оказывать эффект нанопрайминга на семена сои, инфицированные *Pcc*, что выражается в повышении всхожести семян, увеличении биометрических характеристик проростков, а также влияет на антиоксидантный статус растений, снижая количество АФК и продуктов ПОЛ в тканях проростков сои. В условиях полевого эксперимента, проводимого в течение пяти сезонов (2020–2024 гг.), продемонстрировано отсутствие негативного влияния селенсодержащих НК на продуктивность картофеля, в отдельные годы отмечена стимуляция биометрических показателей продуктивности картофеля после предпосадочной обработки клубней НК Se. В качестве экологического аспекта применения НК было исследовано накопление элемента, находящегося в НК в виде НЧ, в избыточном количестве в тканях растений после их обработки НК в эффективной концентрации (0,000625–0,00625% НЧ в конечном растворе) и влияние НК на жизнеспособность почвенных, преимущественно ризосферных бактерий. Было показано, что после обработки растений картофеля *in vitro* селенсодержащими НК Se в их тканях не накапливался. Аналогичный эффект был выявлен и при воздействии марганецсодержащих НК на картофель *in vitro* и медьсодержащих НК. Предварительные эксперименты показали, что селенсодержащие НК не угнетали жизнеспособность почвенных микроорганизмов *Acinetobacter guillouiae, Rhodococcus erythropolis* и *Pseudomonas oryzihabitans*. Неоднозначным был эффект серебросодержащих НК на рост и развитие *Rhodococcus erythropolis* и *Pseudomonas oryzihabitans*, в некоторых случаях НК даже стимулировали прирост бактерий.

Выводы: Селенсодержащие НК обладали антимикробным действием и одновременно фитопротекторным эффектом, что открывает перспективы исследования этих веществ для применения в агрохимии.

Финансирование: Исследование поддержано грантом Российского научного фонда № 25-24-20046 «Оценка влияния халькоген- и металлсодержащих нанокомпозитов на уровень экспрессии патоген-зависимых (PR) генов культурных растений Сибирского региона при заражении фитопатогенной бактерией *Pectobacterium carotovorum*» (exvlcf7mzae3wdl45fs5duask1y3gjfp.pdf).

doi 10.18699/PlantGen-2025-164

Создание и оценка линий удвоенных гаплоидов мягкой пшеницы с генами устойчивости к грибным болезням

Н.В. Петраш*, В.А. Апарина, А.А. Потешкина
СибНИИРС – филиал ИЦиГ СО РАН, р.п. Краснообск, Новосибирская область, Россия
** nadias-na@mail.ru*

Цель: Получить и оценить линии удвоенных гаплоидов из популяции гибридов F_1 с геном устойчивости к мучной росе *Pm28* и популяции BC_1F_2 с генами *Lr41* и *Lr43* устойчивости к бурой ржавчине.
Материалы и методы: В качестве материала использовали: 1) гибриды мягкой яровой пшеницы F_1(Полюшко×Meri), по литературным данным устойчивость сорта Meri определяется одним доминантным геном *Pm28*; 2) популяции BC_1F_2 комбинаций Омская 36×Lr43, Сибирская 12×Lr41, Сибирская 14×Lr41 и их родительские сорта. Удвоенные гаплоиды получали в культуре пыльников *in vitro*. Пыльники выделяли на индукционную среду N6 с добавлением 60 г/л сахарозы + 30 г/л мальтозы, 2,5 мг/л $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, 100 мг/л мио-инозитола, 1 мг/л 2,4-Д, 0,5 мг/л кинетина и 6 г/л агара. После 30–40 дней инкубации при температуре 28 °С каллусы и эмбриоподобные структуры переносили на регенерационную среду с 0,5мг/л НУК, 0,5 мг/л кинетина, 30 г/л сахарозы и 5 г/л растительного агара, затем зеленые регенеранты пересаживали для дальнейшего роста на аналогичную среду без фитогормонов. Оценка полученных DH-линий по комплексу хозяйственно ценных признаков и устойчивости к болезням проводилась в полевом опыте с трехкратным повторением. Оценку степень поражения мучнистой росой делали по интегрированной шкале Саари и Прескотта от 1 до 9 баллов, поражение бурой ржавчиной определяли по 0–4-балльной шкале Майнса и Джексона.
Результаты: Частота регенерации в популяции BC_1F_2 различалась по генотипам и в среднем составила 0,3%. Число всех регенерантов к 100 пыльникам было выше в комбинации Омская 36×Lr43 и у сорта Омская 36. Всего было получено 21 растение, из них 9 – спонтанно удвоенные гаплоиды. Регенерация альбиносов составила 58%. В андрогенезе гибридов Полюшко×Meri сформировалось 6 растений (0,9%), из них 4 оказались удвоенными гаплоидами, на основе этих растений получено 10 линий.
По признакам структуры урожая значения линии BC_1F_2 были на уровне родительских сортов. Устойчивость к бурой ржавчине также была на уровне восприимчивых родительских сортов (3–4 балла), что говорит об отсутствии у DH-линий генов *Lr*. Удвоенные гаплоиды из комбинации F_1(Полюшко×Meri) по усредненным данным полевых опытов (2022–2024 гг.) высокоустойчивы к полеганию, имеют признаки структуры урожая на уровне лучшего родителя (Полюшко). DH-линии Полюшко×Meri проявляли разную реакцию к возбудителю мучнистой росы, так высокой устойчивостью к мучнистой росе (9 баллов) обладают шесть линий из десяти.
Выводы: Получены удвоенные гаплоиды из всех донорных популяций. Всего для дальнейших селекционных испытаний передано 20 линий пшеницы. В комбинации F_1(Полюшко×Meri) получены удвоенные гаплоиды сочетающие устойчивость к мучнистой росе от сорта Meri и продуктивность сорта Полюшко. Получение удвоенных гаплоидов с целевыми генами целесообразно проводить на гибридных популяциях первого поколения.
Финансирование: Исследование поддержано бюджетными проектами ИЦиГ СО РАН № FWNR-2022-0018 и № FWNR-2025-0009.

doi 10.18699/PlantGen-2025-165

Развитие фунгицид-устойчивости и ее обнаружение на примере *Microdochium nivale*

С.Н. Пономарев[1]*, О.А. Гоголева[2], М.Л. Пономарева[1], В.Ю. Горшков[2], Н.Ш. Гараева[1], Д.Д. Сайфутдинова[1], Л.В. Илалова[1]
[1] *ТатНИИСХ ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия*
[2] *КИББ ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия*
* *smponomarev@yandex.ru*

Microdochium nivale – психротолерантный сапротрофный фитопатогенный гриб, поражающий зерновые культуры и вызывающий розовую снежную плесень. Он активно колонизирует растения-хозяева весь вегетационный период, но основной урон наблюдается под снежным покровом или после его таяния, что может приводить к серьезным потерям урожая, особенно в холодных и влажных регионах. Несмотря на активное применение фунгицидов, устойчивость патогена к препаратам увеличивается, включая снижение эффективности бензимидазольных фунгицидов, впервые зафиксированное в 1988 г. Основные механизмы устойчивости связаны с генетическими изменениями, такими как мутации в генах-мишенях. Например, зафиксированы мутации β-тубулина (E198A) у *M. nivale* в Германии и Польше, вызывающие резистентность к бензимидазолам, а мутация Y137F в CYP51 снижает эффективность триазолов. Сверхэкспрессия гена MgABC1 указывает на устойчивость к стробилуринам. Фунгицидная устойчивость выявляется через фенотипические тесты *in vitro* и полевые эксперименты.

Цель: Определить уровень устойчивости к фунгицидам и оценить эффективность препаратов против снежной плесени (*M. nivale*), обосновать важность анализа молекулярных механизмов адаптации грибов.

Материалы и методы: В настоящем исследовании был проведен скрининг штаммов *M. nivale* на устойчивость к различным фунгицидам с использованием картофельно-сахарозного агара, обогащенного фунгицидами. Для экспериментов были отобраны препараты с различными механизмами действия, представляющие разные группы химических соединений: ингибиторы электрон-транспортной цепи (азоксистробин), β-тубулина (карбендазим), 14-α-деметилирования стеролов (тебуконазол), а также предполагаемые лиганды гистидинкиназ (флудиоксонил). Для адаптации штаммов культуры с начальной восприимчивостью последовательно культивировали в среде с возрастающими концентрациями фунгицидов. Эффективность препаратов и фунгицид-устойчивых штаммов тестировалась в поле с обработкой семян и опрыскиванием растений при минимальных/максимальных дозах и различных уровнях инфекционной нагрузки. Полевой участок, свободный от фоновой инфекции, был разделен на шесть блоков: четыре блока предназначались для внесения штаммов *M. nivale*, устойчивых к азоксистробину, карбендазиму, тебуконазолу и флудиоксонилу соответственно; пятый блок включал штаммы, не обладающие устойчивостью; шестой блок был контрольным (без внесения патогена). Методика искусственного инфицирования основывалась на ранее разработанном подходе (Ponomareva et al., 2022), что обеспечивало надежность и воспроизводимость экспериментальных условий.

Результаты: В естественных условиях развития розовой снежной плесени для обработки семян наибольший эффект показали карбендазим, тебуконазод и флудиоксонил, причем доза использования препарата не имела существенного значения. Для опрыскивания по вегетации азоксистробин и флудиоксонил имели лучший защитный эффект как в максимальной, так и в минимальной дозе. Наименьшим поражением розовой снежной плесенью выделялись варианты после комбинированной обработки карбендазимом. Наибольшей резистентностью выделялись штаммы устойчивые к тебуконазолу, которые проявили низкую чувствительность к испытуемым препаратам, особенно при использовании в минимально рекомендуемой дозе. Выявленные карбендазим-резистентные изоляты демонстрировали низкую чувствительность к фунгицидам, особенно при низких нормах их использования. Внесение фунгицид-устойчивых штаммов в почву приводит к существенному поражению растений, которое слабо преодолевается как обработкой семян рекомендуемыми дозами фунгицидов, так и обработкой вегетирующих растений до начала наступления зимовки. Минимальные дозы опрыскивания и комбинированной обработки не приводят к адекватной защите растений. Двукратная фунгицидная обработка в максимальной дозе способствовала лучшему защитному эффекту.

Выводы: В ходе полевых экспериментов было зафиксировано снижение эффективности фунгицидной обработки против снежной плесени. Полученные данные позволили провести ранжирование фунгицидов по степени их воздействия на возбудителя и разработать оптимальные агротехнические приемы их использования. Исследования подтвердили широкое распространение фунгицид-резистентных популяций *M. nivale*, установили корреляцию между резистентностью и вирулентностью, и обосновали необходимость изучения молекулярных механизмов адаптации гриба к фунгицидам.

Финансирование: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-16-00086.

doi 10.18699/PlantGen-2025-166

Расширение генетического разнообразия источников устойчивости озимой ржи к снежной плесени

М.Л. Пономарева[1]*, С.Н. Пономарев[1], Г.С. Маннапова[1], С.Ю. Павлова[1], И.О. Иванова[1], В.Ю. Горшков[2]
[1] *ТатНИИСХ ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия*
[2] *КИББ ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия*
* *smponomarev@yandex.ru*

В последние годы снежная плесень стала серьезной проблемой для сельского хозяйства в России, нанося значительный ущерб урожаю зерновых и кормовых культур. Распространению болезни способствуют генетически детерминированная восприимчивость значительной части возделываемых сортов, высокий уровень агрессивности патогенов и сложный состав патокомплексов, нестабильность климатических условий, а также ограниченный выбор эффективных фунгицидных средств. Возбудителями являются различные виды психрофильных/психротолерантных грибов, отличающиеся большим разнообразием. Наиболее распространены розовая (виды *Microdochium*), склеротиниозная (*Sclerotinia*), серая и крапчатая (*Typhula*) снежная плесень, которые наиболее вредоносны на озимой ржи.

Цель: выявить новые источники генетической устойчивости к снежной плесени у озимой ржи.

Материалы и методы: Фенотипическая оценка генетических ресурсов ржи проводилась как в естественных условиях, так и при искусственном заражении разными видами возбудителей: розовой плесенью (*M. nivale*), серой плесенью (*T. incarnata*) и крапчатой плесенью (*T. ishikariensis*). Методику заражения осуществляли с использованием мицелиальной смеси каждого патогена, внесенной на стерилизованные дробленые зерна ячменя, которые затем распределялись между рядками вручную осенью на стадии трех листьев с плотностью 100 г/м^2. Степень поражения ржи оценивалась по девятибалльной шкале от 1 (здоровое растение) до 9 (100% пораженных листьев).

Результаты: В течение двух лет (2024–2025) было протестировано 360 образцов ржи в полевых условиях и 570 − в лабораторных. Искусственное заражение привело к значительно более сильному поражению (8,55–8,86 балла) и высокой гибели растений (до 90%) по сравнению с естественным заражением (4,73 балла и до 17,5% гибели). Исследование выявило, что у озимой ржи существует неодинаковое генетическое разнообразие по устойчивости к разным возбудителям снежной плесени. Генетический материал местного происхождения продемонстрировал превосходство в иммунологических характеристиках по сравнению с образцами из коллекции ВИР, что объясняется длительным селекционным давлением в условиях естественных инфекционных фонов. На природном фоне устойчивыми к снежной плесени признаны два сорта: Местная (Вологда) и Оргиб с низкими оценками поражения (1–2,9 балла). Умеренно устойчивыми были сорта Кипрез, Графиня, И-30/88 и другие, но некоторые из них оказались восприимчивы к *M. nivale* при искусственно обогащенном фоне. Для серой плесени лишь Местная (Вологда) и И-30/88 показали умеренную восприимчивость (6 баллов), а все остальные сорта оказались высокочувствительными к *T. incarnata*. Отсутствие устойчивых к *T. ishikariensis* форм осталось серьезной проблемой: все изученные сортообразцы обладали высокой восприимчивостью к крапчатой плесени. Наиболее низкий уровень поражения *T. ishikariensis* был зафиксирован у сортов собственной селекции: Огонёк, Тантана и Зилант. Показана положительная корреляция между уровнем поражения снежной плесенью и гибелью растений после зимовки (r = 0,672), подчеркивающая важность отбора генетических источников устойчивости для селекции.

Выводы: Применение искусственных инфекционных фонов позволяет контролировать устойчивость селекционного материала на всех ключевых этапах разработки новых сортов, начиная с отбора источников устойчивости и завершая финальными испытаниями перспективных образцов. Выявлен дефицит генетических ресурсов, устойчивых к тифулезным заболеваниям, особенно к крапчатой снежной плесени.

Финансирование: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-16-00183.

doi 10.18699/PlantGen-2025-167

In silico-анализ полиморфизма генов, контролирующих высоту растений, в пангеноме ячменя

И.В. Поротников*, К.А. Лукина, О.Ю. Антонова, О.Н. Ковалева
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова», Санкт-Петербург, Россия
** i.v.porotnikov@gmail.com*

Цель: Целью исследования является изучение полиморфизма генов *sdw1/denso* (*HvGA20ox2*), *uzu1* (*HvBRI1*), *ari-e* (*HvDep1*) и *Sln1* культурного ячменя, первые три из которых активно используются в селекции короткостебельных форм. Ген *Sln1* – ортолог генов «зеленой революции» *Rht-B1* и *Rht-D1* мягкой пшеницы, для которого, однако, известны только индуцированные мутанты (Chandler et al., 2002), природный же полиморфизм у культурного ячменя никогда не изучался.
Материалы и методы: Материалом для исследования послужили последовательности генов *HvGA20ox2*, *HvBRI1*, *HvDep1* и *Sln1* у 53 генотипов культурного ячменя, представленных в пангеноме (Jiao et al., 2024). Извлечение и выравнивание последовательностей генов проводили в программе Unipro UGENE.
Результаты: Наиболее полиморфным у изученных генотипов оказался ген *HvGA20ox2*, для которого выявлено семь аминокислотных замен (шесть различных вариантов белка). Анализ нуклеотидной последовательности гена подтвердил наличие в пангеноме сортов с известными аллельными вариантами *sdw1.c* и *sdw1.d,* приводящими к короткостебельности (Teplyakova et al., 2017; Xu et al., 2017). С аллелем *sdw1.c* было восемь образцов ячменя (Aizu 6, HOR 12184, HOR 13663, HOR 2180, HOR 3081, HOR 4224, HOR 495, Golden Melon). С аллелем *sdw1.d*, характеризующимся наличием функциональной делеции 7 п.н., было выявлено два образца (Barke и RGT Planet). Показано, что эта делеция приводит к сдвигу рамки считывания и укороченному полипептиду. Также обнаружено восемь образцов с описанным нами ранее аллелем *sdw1.ins* (Lukina et al., 2024), имеющим вставку в 5’-UTR транспозона размером 164 п.н. (на 92,07% гомологичен последовательности Thalos_2) – образцы HOR 10350, HOR 13594, HOR 13821, HOR 6220, HOR 2779, HOR 7385, HOR 8117, HOR 9043. Анализ белкового продукта гена у этих образцов позволил нам впервые выявить наличие четырех аминокислотных замен в последовательности полипептида гена *HvGA20ox2*. Кроме того, у семи других образцов в обнаружен другой вариант этой инсерции размером 169 п.о., отличающейся от ранее описанной вставкой 5 п.н. и девятью SNPs. По аминокислотному составу генотипы с этой измененной вставкой в 5’-UTR области гена идентичны аллелю дикого типа.
In silico-анализ полиморфизма второго гена *HvBRI* позволил выявить наличие у образцов Akashinriki и Chikurin Ibaraki аллеля *uzu1.a*, характеризующегося аминокислотной заменой 857H/R, приводящей к короткостебельному фенотипу. У пяти генотипов кодируемый полипептид имел N-концевую вставку 85 аминокислот – для них инициация транскрипции происходила раньше. Потребуется дополнительное изучение данных по этим образцам. Большинство образцов (46 из 53) имели последовательность полипептида дикого типа.
Для гена *HvDep1* большинство (50 из 53) образцов имели последовательность белка дикого типа, два образца (Golden Promice и Maximus) были с аллелем *ari-e.GP,* характеризующимся сдвигом рамки считывания и преждевременным стоп-кодоном (Wendt et al., 2016). Еще один образец HOR 2830C имел две аминокислотные замены.
Впервые *in silico* изучен полиморфизм гена *Sln1* – ортолога генов *Rht-B1* и *Rht-D1* мягкой пшеницы. Данные гены кодируют DELLA-белки, участвующие в процессах сигналинга гиббереллловой кислоты (Peng et al., 1999). Для генов *Rht-B1* и *Rht-D1* в литературе (Li et al., 2013) описаны мутации, приводящие к преждевременным стоп кодонам и укороченному N-концевому белку, а также несколько разных инсерций в 5’-UTR и в кодирующей области. У гена *Sln1* мы не обнаружили похожих мутаций, однако у образцов HOR 19184 и HOR 7172 выявлена инсерция, вызывающая сдвиг рамки считывания и образование сильно укороченного пептида всего в 16 аминокислот. Полученные результаты позволяют предположить, что последовательность гена *Sln1* ячменя более консервативная, чем у его ортологов мягкой пшеницы.
Выводы: Таким образом, в пангеноме ячменя нами изучены гены *HvGA20ox2*, *HvBRI1* и *HvDep1*, аллели которых наиболее часто используют в селекции короткостебельных форм и новый для селекции ген *Sln1*. Для данных генов в пангеноме мы подтвердили наличие как существующих аллелей (*sdw1.c*, *sdw1.d*, *sdw1.ins*, *uzu1.a*, *ari-e.GP*), так и выявили новые аллельные варианты, дальнейшее изучение которых может позволить расширить пул источников короткостебельности у ячменя.
Финансирование: Исследование поддержано проектом РНФ № 25-26-00341, https://rscf.ru/project/25-26-00341/.

doi 10.18699/PlantGen-2025-168

Генетические детерминанты узорчатой древесины у карельской березы

Е.К. Потокина[1, 2]*, Д.С. Каржаев[2, 3], М.В. Тис[2, 3], Е.Д. Сафронычева[2, 3], В.А. Волков[2, 3], Л.В. Ветчинникова[4], А.В. Жигунов[2]

[1] *Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия*
[2] *Санкт-Петербургский государственный лесотехнический университет им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия*
[3] *Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт лесного хозяйства, Санкт-Петербург, Россия*
[4] *Институт леса Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», Петрозаводск, Россия*
* *e.potokina@skoltech.ru*

Цель: В 2024 году были впервые получены экспериментальные молекулярно-генетические свидетельства о том, что признак «узорчатость древесины» у карельской березы может быть обусловлен мутациями в одном или нескольких генах, близко расположенных в компактном интервале ~1 млн п.н. хромосомы 10 (*Sci Rep* 14, 5058, 2024. https://doi.org/10.1038/s41598-024-55404-y). Однако эти маркеры были выявлены на материале сибсового потомства, полученного в результате скрещиваний только двух родительских пар карельской березы. Необходимо было выяснить, не влияет ли высокая степень родства изученных берез на точность анализа, и будут ли генетические детерминанты «узорчатого» фенотипа по-прежнему локализованы в том же интервале хромосомы 10, если полногеномный анализ ассоциаций будет проведен на выборке карельской березы разного географического происхождения.

Материалы и методы: Для подтверждения выявленной ассоциации между SNP-маркерами на хромосоме 10 и изменчивостью «узорчатого» фенотипа у карельской березы был осуществлен повторный анализ ассоциаций (GWAS) на выборке независимых (неродственных) генотипов, включающей деревья с обычной прямоволокнистой текстурой древесины и с узорчатой текстурой в древесине. Для проведения такого анализа осуществлен запуск Illumina с целью генотипирования дополнительной выборки карельской березы методом RADseq. С целью углубленного анализа геномных участков, содержащих SNP, ассоциированных с признаком «узорчатость древесины» проведено также полногеномное секвенирование нескольких генотипов карельской березы разного географического происхождения методом WGS с целью подробно охарактеризовать участки хромосом, содержащие SNP, ассоциированные с «узорчатой древесиной», сопоставить их последовательности с референсным геномом березы повислой, и найти возможные структурные изменения, позволяющие объяснить формирование «узорчатого» фенотипа.

Результаты: На выборке разновозрастных неродственных 96 генотипов березы с использованием алгоритма GEMMA (Genome-wide Efficient Mixed Model Association) удалось подтвердить, что SNPs, с наибольшей вероятностью сцепленные с «карельским» фенотипом, расположены в ранее идентифицированном интервале хромосомы 10. Полногеномные прочтения (WGS) были также получены для берез карельского фенотипа из Финляндии, Белоруссии, Карелии (Великая Губа), Карелии (Медвежьегорск), а также берез с некарельским фенотипом из Карелии. По результатам сравнения полногеномных прочтений, полученных для берез карельского и некарельского фенотипа, в идентифицированном интервале на хромосоме 10, содержащем 104 кодирующие последовательности, было выявлено 1872 SNP, которые демонстрировали разные аллели у карельских берез по сравнению с некарельскими. Методом последовательного исключения: 104 гена, локализованных в анализируемом хромосомном интервале, из них только 20 генов, имеющих SNP с контрастными аллелями у карельских и некарельских берез, из них только 13 генов имеют SNP или InDels в экзонах, из них только у 10 генов выявлены несинонимичные замены – был предложен список генов-кандидатов, полиморфизм которых потенциально может быть причиной возникновения «карельского» фенотипа у березы.

Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ № 22-16-00096 (Продление), https://rscf.ru/project/22-16-00096.

doi 10.18699/PlantGen-2025-169

Анализ влияния нарушений работы авто- и гетеротрофных механизмов ассимиляции углерода и энергии на метаболизм *Chlamydomonas reinhardtii*

Р.К. Пузанский[1]*, А.А. Кирпичникова[2], Д.А. Романюк[3], А.Л. Шаварда[1, 2], М.Ф. Шишова[2]
[1] *Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия*
[2] *Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*
[3] *Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия*
* *puzansky@yandex.ru*

Цель: Микроводоросли способны расти как фотоавтотрофно, используя для получения энергии и углерода только свет и углекислый газ, так и усваивать экзогенные органические соединения. Вклад каждого из этих источников в энергетический и углеродный бюджет клетки и механизмы настройки метаболизма, обеспечивающие трофическую адаптацию, остаются предметом исследований. Зеленая одноклеточная водоросль *Chlamydomonas reinhardtii* является модельным организмом, широко используемым в биологических исследованиях. Она способна использовать ацетат в качестве единственного источника углерода и энергии. Целью данной работы было изучение метаболических особенностей линий *C. reinhardtii* в различных трофических режимах, определяемых способностью к автотрофному и гетеротрофному питанию.
Материалы и методы: Был проведен сравнительный анализ линий дикого типа (cc-124) и линий с дефектами механизмов гетеротрофного и фотоавтотрофного питания: cc-3400 (дефект митохондриальной цитохром-с-оксидазы, COX1), cc-440 (дефект пластидной АТФ-синтазы), LMJ.RY0402.085001 (дефект изоцитратлиазы, ICL), cc-4666 (дефект рубиско-активазы, RCA), cc-4141 (нарушение функционирования фотосистемы II). Клетки поддерживались на средах TAP (+ ацетат) и TM (− ацетат) при постоянном освещении или в темноте. Метаболические эффекты этих нарушений выявляли с помощью профилирования метаболитов методом газовой хроматографии, сопряженной с масс-спектрометрией (ГХ-МС). Дополнительно методом ОТ-ПЦР в реальном времени исследовали экспрессию генов, кодирующих ключевые ферменты первичного метаболизма и пластидные транспортеры.
Результаты: Результаты показали, что потеря RCA, ведущая к падению фиксации углерода, а также нарушение митохондриального дыхания вследствие дефекта COX1 не оказывали значительного влияния на рост культур. В то же время дефекты ICL, пластидной АТФ-синтазы и ФСII приводили к значительному снижению скорости роста и максимальной плотности при миксотрофных условиях.
Дифференциальное накопление метаболитов и изменения в экспрессии генов показали, что трофическая адаптация тесно связана с регуляцией гликолиза/глюконеогенеза и цикла Кребса. Анализ экспрессии генов пластидных транспортеров выявил различия в перераспределении энергии между клеточными компартментами в зависимости от активности авто- и гетеротрофных путей. Кроме того, различия в накоплении сахаров указывают на важную роль перестройки углеводный обмена при трофической адаптации. При автотрофном питании наблюдались повышенные уровни сахаров, что, вероятно, связано с усиленной фиксацией углерода в процессе фотосинтеза и активным обменом углеводов.
Липиды выполняют ключевые функции в резервировании ресурсов и формировании мембран. В зависимости от физиологического состояния клетки мембраны могут синтезироваться, разрушаться или изменять свой состав. Установлено, что нарушение фотосинтетических функций приводило к снижению накопления ненасыщенных жирных кислот. Кроме того, у большинства мутантных линий наблюдалось уменьшение уровня основного стерина – эргостерина. Эти данные подтверждают связь между метаболической активностью и липидным составом мембран.
Выводы: Таким образом, при миксотрофном росте ацетат является важнейшим источником углерода, а свет – главным источником энергии. Различия в трофическом состоянии, в первую очередь, связаны с режимом работы ЦТК, перераспределением энергии между пластидой и цитозолем, а также балансом депонирования/мобилизации резервов и составом мембран.
Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ № 25-14-00490.

doi 10.18699/PlantGen-2025-170

Селекционный потенциал интрогрессии в хромосому 5D яровой мягкой пшеницы от вида *Aegilops tauschii*, связанной с размером корневой системы

Т.А. Пшеничникова*, О.Г. Смирнова
Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
** wheatpsh@bionet.nsc.ru*

Цель: Целью данного исследования был перенос фрагмента хромосомы 5D из озимой интрогрессивной линии Чайниз Спринг(Синтетик 6× 5D)-5 (ИЛ 5D-5) в яровой российский сорт и изучение связи между увеличением корневой системы и другими агрономически важными показателями.
Материалы и методы: В работе использованы озимая линия ИЛ 5D-5 сорта Чайниз Спринг (ЧС) с интрогрессиями в районе гена *Vrn-D1* хромосомы 5D, а также семьи пятого поколения, полученные от скрещивания ярового сорта Саратовская 29 (С29) с ней. Эти семьи F5 (RST) получены отбором в последовательных поколениях на яровость, и большую корневую систему. Молекулярный анализ аллельного разнообразия по генам яровости показал, что большинство из них являются носителями доминантного аллеля гена *Vrn-A1* в гомо- или гетерозиготном состоянии. Эксперименты проводили в условиях гидропонной теплицы Института цитологии и генетики СО РАН. Для каждого генотипа было выращено по 6 растений в двух повторностях в течение трех тепличных сезонов. Для оценки достоверности отличий между сортом-реципиентом и линиями с интрогрессиями использовали критерии Стьюдента и Фишера.
Результаты: Увеличение размера корневой системы было связано с интрогрессией в район гена *Vrn-D1* хромосомы 5D и озимым образом жизни линии ИЛ 5D-5. Так как эта интрогрессивная линия является продуктом рекомбинации между синтетической пшеницей (AABBDD) и сортом ЧС, то таким же образом возможен перенос этой ценной интрогрессии в яровой сорт. Для этого был использован сорт С29 со слабой корневой системой. После скрещивания с линией ИЛ 5D-5 и пятикратного отбора на яровость и размер корневой системы было получено 15 линий RST. Они характеризовались разнообразием по дате цветения от ранних до среднеранних и проявляли разнообразие по длине и весу корневой системы. По морфологии их корневая система была схожа с корневой системой линии ИЛ 5D-5. Она отличалась неограниченным вторичным ветвлением корней, которое не прекращалось даже после цветения и созревания зерна. Длина корней превышала как значение сорта С29, так и интрогрессивной линии ИЛ 5D-5. Средний вес корней был значительно выше, чем у ярового сорта и приблизительно соответствовал линии ИЛ 5D-5. Положительным, хотя и непредвиденным следствием отбора на размер корневой системы было значительное увеличение содержания белка и клейковины в зерне. Они превысили значения обоих родителей. Ранее было предсказано существование гена, контролирующего эти признаки, в районе гена *Vrn-D1*. Также положительным и ценным свойством интрогрессии стало значительное среднее увеличение продуктивности линий RST. У них увеличилась средняя масса зерна с растения более чем в 3 раза по сравнению с яровым сортом С29. При этом средняя масса 1000 зерен была сопоставима с сортом С29, который характеризуется сохранением этого признака в различных условиях. Родительская линия ИЛ 5D-5 является носителем доминантного аллеля гена мягкозерности эндосперма зерновки и имеет низкое качество, в отличие от сорта С29. Тем не менее среди линий RST была выделена одна, которая, наряду с мощной корневой системой и высоким содержанием клейковины, продемонстрировала прекрасные физические свойства муки и теста. Это позволило отнести ее к классу сильных пшениц. Полученные в результате эксперимента результаты позволяют говорить о переносе из вида *Ae. tauschii* селекционно-ценного гена, который увеличивает размеры корневой системы и одновременно улучшает такие агрономические важные признаки как продуктивность растения и содержание клейковины в зерне.
Финансирование: Исследование поддержано госзаданием № FWNR-2022-0017.

doi 10.18699/PlantGen-2025-171

Опыт редактирования растений семейства Solanaceae: трудности и решения

О.Л. Ражина[1, 2], А.С. Коновалова[1], В.В. Никаноркина[1], А.С. Трофимов[1], В.Д. Карлов[1], М.В. Лебедева[1], Р.А. Комахин[1], В.В. Таранов[1]*, А.В. Бабаков[1]

[1] *ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия*
[2] *Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия*
** v.taranov1@gmail.com*

Целью работы было внести направленные изменения в несколько генов картофеля и табака влияющих на формирование хозяйственно ценных признаков. *Solanum tuberosum* – важная сельскохозяйственная культура. Сложный тетраплоидный геном и сложные скрещивания сильно затрудняют селекцию картофеля. Современные инструменты для геномного редактирования, такие как CRISPR/Cas9, позволяют повысить эффективность селекционного процесса. Однако эффективность редактирования должна быть очень высокой, чтобы затронуть все аллели полиплоидного генома.

Nicotiana tabacum, или культурный табак – аллотетраплоид, образовавшийся в результате гибридизации *N. sylvestris* и *N. tomentosiformis*, что иногда также приводит к необходимости редактирования четырех аллелей для достижения фенотипического эффекта. Для табака разработаны простые и эффективные протоколы трансформации и регенерации, что делает его удобным модельным объектом биологии растений, в частности, в работах по разработке и оптимизации методов редактирования геномов растений.

Материалы и методы: Редактирование генома растений картофеля и табака осуществляли с помощью технологии CRISPR/Cas. В качестве способа доставки инструментов редактирования использовали агробактериальную трансформацию.

Результаты: Мы успешно применили систему редактирования генома CRISPR/Cas9 для инактивации нескольких генов, которые влияют на хозяйственно ценные признаки картофеля: *StLFY*, *StDRM6-1* и *StVLNV*. *StLFY* в картофеле является ключевым регулятором перехода к цветению. Нокаут по StLFY привел к фенотипическим изменениям как соцветий, так и столонов, повлияв на клубнеобразование. Полученные линии с нокаутом гена *StLFY* линии могут быть использованы в качестве модели для изучения регуляции клубнеобразования. Вторая часть работы включала в себя мультиплексное редактирование генома картофеля с целью одновременного нокаутирования генов *StDRM6-1* и *StVLNV*. Ген *StDMR6-1* является геном восприимчивости к инфекции *Phytophthora infestans*, поскольку, кодируемый им белок *DMR6* участвует в подавлении иммунного ответа растений, основанного на действии салициловой кислоты. Ген *StVLNV* кодирует вакуолярную инвертазу, с экспрессией которой связано холодовое осахаривание клубней при их ранении. В результате высокотемпературной обработки этих клубней получаются продукты темного цвета с высоким содержанием акриламида, нейротоксина и канцерогена. Эффективность редактирования гена *StVLNV* в нашей работе оказалась существенно выше чем для *StDMR6-1*. Показано, что нокаут *StVLNV* приводит к существенному снижению накопления редуцирующих сахаров при хранении.

При редактировании генома табака в качестве мишени использовался ген *eIF4E*, являющийся геном восприимчивости к вирусу картофеля Y и ген *PDS*, кодирующий фермент фитоен десатуразу, нокаут которого имеет яркий фенотипический эффект, часто используется для отработки и оптимизации методов редактирования генома различных растений. Эффективность редактирования гена *PDS* была существенно выше, чем для *eIF4E* независимо от используемой наводящей РНК.

Выводы: Считается, что эффективность редактирования сильно зависит от sgRNA, но наш опыт показывает, что ген-мишень также играет важную роль.

Финансирование: Исследование поддержано Комплексной исследовательской программой «Развитие селекции и семеноводства картофеля».

doi 10.18699/PlantGen-2025-172

Оценка взаимодействия факторов инициации трансляции eIF4E с белком VPg Y-вирус картофеля *in planta*

О.Л. Ражина[1]*, В.В. Никаноркина[1], А. Сущенко[2], М.В. Лебедева[1], В.В. Таранов[1]
[1] *Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия*
[2] *Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия*
* *Oksana-razhina@yandex.ru*

Цель: Создать систему *in planta* для оценки способности факторов инициации трансляции 4E табака и картофеля поддерживать трансляцию белков вируса Y (PVY).

PVY вызывает опасные заболевания, которые поражают широкий спектр растений семейства Solanaceae, включая помидоры, картофель и табак. Белок VPg (Viral Protein Genome-linked) имитирует кэп-структуру мРНК клетки-хозяина, что позволяет ему рекрутировать кэп-связывающие факторы инициации трансляции семейства eIF4E для синтеза вирусных белков. Ранее было показано, что eIF4E-1 является главным фактором восприимчивости у картофеля, именно с первым фактором в первую очередь взаимодействует вирусный белок VPg. Внося мутации в данный фактор, можно добиться прекращения взаимодействия с VPg и повышения устойчивости картофеля к PVY. Для оценки белок-белковых взаимодействий существуют разные методы, каждый из которых имеет свои преимущества и недостатки. Одним из таких широко используемых методов является дрожжевая двугибридная система. Эта технология не требует специального оборудования, отличается высокой эффективностью, простой и низкой себестоимостью. Однако на практике, чтобы подтвердить наличие белок-белковых взаимодействий *in vivo* или *in vitro*, выявленных в дрожжевой двугибридной системе, необходимо провести дополнительные исследования, это связано с различием в физиологии дрожжей и растений. Таким образом, встает необходимость в создании модели *in planta*, в которой полученные результаты о взаимодействии будут более достоверны и позволят провести проверку различных вариантов модифицированного белка непосредственно в растениях. *N. tabacum* является удобным объектом для сверхэкспрессии белков, на основе которого может быть создана система *in planta* для проверки способности мутантных факторов картофеля поддерживать трансляцию вирусных белков. Тем более табак и картофель относятся к семейству Solanaceae и поражаются одними штаммами PVY. Однако у табака есть свое семейство факторов eIF4E значительно больше, чем у картофеля (8 и 3 соответственно). Поэтому сначала необходимо установить какой или какие факторы могут использоваться PVY и нокаутировать их с помощью подходов геномного редактирования.

Материалы и методы: В этом исследовании, используя дрожжевой двугибридный анализ (YTH), была проведена проверка взаимодействия между факторами eIF4E табака с различными формами белка VPg вируса PVY штамма NTN. Были созданы две генетические конструкции на основе вектора pKSE401 для мультиплексного редактирования факторов eIF4E1-S и eIFiso4E-T табака с помощью системы CRISPR-Cas9. Была проведена агробактериальная трансформация листовых эксплантов *N. tabacum* созданными генетическими конструкциями для внесения нокаут-мутаций в два гена. Полученные после регенерации и селекции растения проверялись на наличие вставки Т-ДНК и редактирования. Было получено поколение Т1. Для последующего анализа на заражение вирусом были отобраны растения, лишенные вставки Т-ДНК и гомозиготные по eIF4E1-S и eIFiso4E-T.

Результаты: В рамках работы нами были определены основные факторы eIF4E табака, используемые VPg PVY штамма NTN. Были созданы две генетические конструкции для получения нокаут-мутантов по генам eIF4E1-S и eIFiso4E-T. После агробактериальной трансформации и регенерации всего было отобрано 85 трансгенных растений табака, среди которых 2 растения содержали мутации в eIF4E1-S и 3 растения – в eIFiso4E-T. Из них только одно растение было редактированным по обоим генам. После получения поколения Т1 были отобраны растения без вставки Т-ДНК и проведено заражение вирусом Y для подтверждения повышения устойчивости в сравнении с контролем.

Выводы: Таким образом, была создана геномно-редактированная линия *N. tabacum*, которая может быть использована для сверхэкспрессии мутантных факторов инициации трансляции eIF4E для последующей проверки их способности поддерживать трансляцию белков PVY *in planta*.

Финансирование: Исследование выполнено в рамках государственного задания номер FGUM-2022-0004.

doi 10.18699/PlantGen-2025-173

Методы агробактериальной трансформации различных сортов *Camelina sativa* L.

П.Л. Ражина[1]*, А.А. Веселкин[1], П.И. Козенкова[2], М.В. Лебедева[1], В.В. Таранов[1]

[1] *Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия*

[2] *Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К. А. Тимирязева, Москва, Россия*

* *razhinapolina@yandex.ru*

Цель: Разработать эффективный протокол агробактериальной трансформации отечественных сортов *Camelina sativa* с целью дальнейшего геномного редактирования.

Материалы и методы: В работе использовались три сорта рыжика посевного (*C. sativa*): Кристалл, Омич и Исилькулец, предоставленные селекционерами ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК. Использовались два принципиально отличающихся подхода трансформации: *in planta*, методом погружения соцветий (floral dip), и *in vitro*, путем агробактериальной трансформация культуры клеток и тканей. В ходе работы был использован вектор с репортеной кассетой Ruby, которая обеспечивает синтез пигмента беталаина, и геном, придающим растениям устойчивость к гигромицину. Для трансформации методом floral dip было использовано два штамма *Agrobacterium tumefaciens*: AGL0 и EHA105 при двух различных концентрациях органосиликонового ПАВ Silwet® L-77: 0,02 и 0,05%. Для трансформации *in vitro* были использованы гипокотили и семядоли пятидневных проростков.

Результаты: После трансформации методом floral dip было получено 6 581 семя, 80 из которых проявляли красный окрас за счет синтеза беталаина. В дальнейшем эти семена были пророщены *in vitro* на среде с гигромицином и проверены методом ПЦР на наличие вставки. Средняя эффективность по всем сортам составила 1,2%. При этом наибольшая эффективность (свыше 2%) трансформации проявлялась у сортов Кристалл и Исилькулец при использовании штамма EHA 105 и Silwet® L-77 в концентрации 0,02%. Сорт Омич показал вдвое меньшую эффективность при трансформации этим методом.

Эффективность получения трансгенных каллусов (окрашенных в красный цвет) с помощью агробактериальной трансформации *in vitro* оказалась выше: 6,25% для гипокотилей и 19,4% для семядолей. Однако накопление беталаина, по всей видимости, отрицательно влияло на успешность регенерации из каллуса, так как не удалось добиться регенерации побегов из трансгенных каллусов, несмотря на то что регенерация контрольных растений шла достаточно хорошо.

Выводы: Были разработаны протоколы агробактериальной трансформации рыжика посевного двумя разными подходами. Метод floral dip оказался более подходящим для получения большой выборки семян, из которых возможно отобрать трансгенные растения, однако для него желателен визуальный маркер для отбора. Трансформация *in vitro* потенциально обладает большей эффективностью, но требует дальнейшей оптимизации.

doi 10.18699/PlantGen-2025-174

Влияние новохизоля на экспрессию генов, обеспечивающих устойчивость мягкой пшеницы к стеблевой ржавчине

А.В. Разуваева*, Е.С. Сколотнева, В.В. Фоменко, А.Б. Щербань
Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
** razuvaevaav@bionet.nsc.ru*

Цель: Использование биологических средств защиты растений перспективно для сельского хозяйства. В частности, широкое распространение получили биопестициды на основе хитозана для стимуляции роста и защиты растений от широкого спектра патогенных микроорганизмов. Новохизоль – это продукт, полученный путем внутримолекулярного сшивания линейных молекул хитозана и имеющий шаровидную форму, что обеспечивает ему ряд преимуществ перед хитозаном. Ранее было показано, что новохизоль оказывает стимулирующее действие на рост и развитие мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Однако влияние этого препарата на защитные механизмы от ржавчинных заболеваний ранее не изучались. Целью данной работы было проанализировать уровень экспрессии потенциальных генов-мишеней, обеспечивающих повышенный уровень устойчивости растений мягкой пшеницы к стеблевой ржавчине под действием препаратов новохизоля. Перспективными генами-кандидатами на обеспечение устойчивости растений мягкой пшеницы к грибным заболеваниям являются гены, кодирующие белки PR (pathogenesis-related), а также ген мембранного рецептора хитина *CERK1*.

Материалы и методы: 10-дневные проростки линии мягкой пшеницы, несущей ген устойчивости к стеблевой ржавчине *Sr6*, обрабатывали раствором новохизоля в концентрации 0,125% за четыре дня до заражения *Puccinia graminis f. sp. tritici (Pgt)*. Заражение проводили двумя расами *Pgt* – авирулентной расой Avr6 и вирулентной расой vr6. Листовой материал для последующего анализа собирали через 3, 6, 9, 24, 48, 72, 144 часа после инокуляции. Анализ транскрипции генов-мишеней до и после заражения стеблевой ржавчиной проводился методом количественной ПЦР по стандартной методике. Для предварительного анализа было выбрано два гена: ген *CERK1*, кодирующий мембранный рецептор хитина, и ген *PR3*, кодирующий хитиназу.

Результаты: Было показано, что у растений, зараженных авирулентной расой (Avr6) и не обработанных препаратом, экспрессия гена *CERK1* возрастает в полтора раза в течение трех часов после узнавания гриба (во время эктофитной фазы патогенеза), но далее снижается. У обработанных препаратом растений, зараженных этой расой, уровень экспрессии *CERK1* повышается более чем в два раза к 24 часам после заражения, то есть при переходе от эктофитной в эндофитную фазу патогенеза. На третьи сутки после заражения у последней группы все еще наблюдается базовый уровень экспрессии, по сравнению с другими группами растений, включая контроль, у которых наблюдается значительное снижение уровня экспрессии. Растения, зараженные вирулентной расой (vr6), как обработанные, так и необработанные новохизолем, после перехода эктофитной фазы патогенеза в эндофитную развивают уровни экспрессии гена *CERK1*, в полтора раза превышающие базовое значение. У обработанных новохизолем растений этой группы наблюдается дополнительный пик экспрессии гена через 3 часа после инокуляции, а также пролонгирование базового уровня экспрессии на вторые и третьи сутки.

В отличие от гена *CERK1* изменение экспрессии гена *PR3* было более значительным, вплоть до 20-кратного увеличения. Растения, зараженные авирулентной расой (Avr6), демонстрировали пик экспрессии гена *PR3* через 3 часа после инокуляции вне зависимости от обработки препаратом. Однако в условиях обработки новохизолем уровень экспрессии гена *PR3* дополнительно поднимался при переходе от эктофитной к эндофитной фазе патогенеза (24–48 ч), чего не наблюдалось в необработанных растениях. Пик экспрессии гена *PR3* в растениях, зараженных вирулентной расой Vr6, приходился на 24–48 часа после инокуляции. После обработки новохизолем такие растения дополнительно демонстрировали пик экспрессии гена *PR3* через 3 часа после заражения стеблевой ржавчиной.

Выводы: Проведен анализ транскрипции двух генов-мишеней *CERK1* и *PR3*, кодирующих рецептор хитина и фермент хитиназу соответственно. Показано, что под воздействием обработки новохизолем у инфицированных обоими расами (Av6 и vr6) стеблевой ржавчины растений происходит увеличение экспрессии гена *CERK1* в 1.5–2 раза при переходе эктофитной стадии патогенеза в эндофитную (24 часа после инокуляции). Экспрессия гена *PR3* значительно повышалась в условиях заражения обоими расами стеблевой ржавчиной. Наиболее сильное увеличение экспрессии (до 20 раз) было выявлено через 3 часа после инокуляции в растениях, обработанных новохизолем. В дальнейшем панель генов, ответственных за устойчивость растений мягкой пшеницы к заражению стеблевой ржавчиной в условиях обработки новохизолем, будет расширена.

Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ 23-16-00119.

doi 10.18699/PlantGen-2025-175

Множественные дивергированные дисперсные повторы в геноме риса

В.М. Руденко*, Е.В. Коротков
ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва, Россия
** v.m.rudenko@gmail.com*

Цель: В настоящее время аннотация геномов предполагает не только определение местоположения генов, но также и различных видов повторов, включая дисперсные повторы (ДП). Выявление ДП важно по причине того, что большая часть из них является мобильными элементами, которые играют ключевую роль в пластичности генома, обеспечивая его наилучшую приспособленность к изменениям окружающей среды. Наибольшее число ДП обнаруживается в геномах растений. Цель работы состояла в выявлении и дальнейшем изучении сильнодивергированных дисперсных повторов в геноме *Oryza sativa* с помощью IP метода. Также необходимо было сравнить полученные результаты с известной аннотацией повторов риса, проведенной конвейром EDTA.
Материалы и методы: Все разработанные на сегодняшний день биоинформационные методы поиска ДП de novo имеют существенное ограничение. Они способны находить ДП с незначительной степенью дивергенции, определяемой числом замен на один нуклеотид *x*: $x \leq 1.0$. Разработанный нами IP метод позволяет выявлять сильнодивергированные ДП с $x \leq 1.5$, которые не могут быть обнаружены другими подходами. IP метод строит позиционно весовые матрицы (ПВМ) семейств ДП, учитывающие частоты динуклеотидов в последовательностях повторов. ПВМ далее используются для поиска ДП методом динамического программирования.
В данной работе мы осуществляли поиск ДП в геноме *O. sativa* (сборка IRGSP-1.0). Геномная последовательность риса и аннотация, включающая местоположение генов были взяты с сайта: https://plants.ensembl.org/Oryza_sativa/Info/Index. Поскольку геном риса хорошо изучен, также имеются данные по наличию в нем различных видов повторов. Нами была рассмотрена для сравнения найденных IP методом ДП аннотация, полученная конвейером EDTA, который включает в себя 7 различных алгоритмов выявления повторов.
Результаты: Геном *O. sativa* содержит 12 хромосом общей длины около 370 Мб. Из-за большого размера генома для генерации ПВМ семейств ДП брались только 6 и 11 хромосомы. По этому обучающему множеству было построено 79 семейств повторов. Максимальная длина ДП ограничивалась 600 н.п. С помощью ПВМ семейств была просканирована геномная последовательность риса в прямом и обратном направлении. Для устранения избыточности поиск ДП производился с тем условием, чтобы повторы, расположенные на одной нити ДНК, не пересекались между собой более чем на 50 н.п. Для оценки ошибки предсказания проводился поиск ДП в случайных последовательностях. По каждому семейству ДП определялся уровень FDR (false discovery rate). На уровне FDR менее 5% в геноме риса было обнаружено 992,739 ДП, при этом число повторов на прямой и обратной нити ДНК примерно одинаково. Повторы покрывают чуть более 66% генома *O. sativa*. Основная часть ДП имеют длины в диапазонах 100–300 н.п, а также в районах 470 и 590 н.п. Исследование взаимного расположения экзонов и ДП показало, что преимущественно ДП располагаются в межгенных областях.
Конвейер EDTA смог обнаружить в геноме риса 386,672 ДП, которые покрывают 46.4% генома. Большинство ДП короткие 50-300 н.п. Мы также изучали пересечение ДП найденных методом IP и EDTA. В ряде случаев наблюдается значимая корреляция между построенными нами семействами и классами ДП, выявляемых EDTA.
Выводы: С помощью IP метода было обнаружено в 2,5 раза большее ДП в геноме *O. sativa*, чем было выявлено конвейером EDTA. Это сильнодивергированные ДП средней длины. В диапазоне коротких до 200 н.п. длин повторов метод IP использовать нецелесообразно. В этом случае при построении выравнивания по размытой профильной матрице с 16 строками невозможно достичь необходимого уровня статистической значимости. В то же время существующее ПО, что было показано на примере конвейера EDTA, ориентировано на определение достаточно коротких 50-250 н.п. консервативных повторов. В этой связи оптимальным решением для получения всеобъемлющей аннотации ДП в геномной последовательности будет использование популярных de novo подходов в совокупности с IP методом.
ДП покрывают значительную часть генома *O. sativa*. Нами дополнительно была проанализирована последовательность риса Индика *R498*. Сканирование этой сборки теми же ПВМ, которые мы построили ранее, продемонстрировало наличие более миллиона ДП, покрытие генома превышает 69%. Таким образом, множественное присутствие ДП является характерным для различных видов риса. Вероятная функция ДП в геноме состоит в формировании пространственной структуры молекулы ДНК.
Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ № 24-24-00031.

doi 10.18699/PlantGen-2025-176

Программное средство iSensor для визуализации ответа на фитогормоны в растительных тканях по данным scRNA-seq

М.А. Рыбаков[1]*, Е.В. Землянская[1, 2], В.А. Долгих[1, 2], В.В. Миронова[3]
[1] *Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия*
[2] *Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия*
[3] *Институт биологических и экологических наук им. Радбауда, Неймеген, Нидерланды*
* *m.rybakov@bionet.nsc.ru*

Цель: Фитогормоны играют основополагающую роль в регуляции развития растений. Знания о распределении фитогормонов в растительных тканях критически важны для понимания механизмов развития, однако способы прямого измерения уровня фитогормонов в клетках весьма ограничены. В связи с этим широко используется непрямой метод оценки активности фитогормонов в тканях с помощью генетических сенсоров – трансгенных растений, экспрессирующих репортерный ген под контролем чувствительного к фитогормону регуляторного элемента. Вместе с тем, этот подход требует создания отдельного генетического сенсора для каждого фитогормона и для каждого вида растений. Более того, не всегда удается разработать оптимальный регуляторный элемент, эффективно работающий в широком диапазоне концентраций гормона. В данной работе мы предлагаем использовать прогресс в развитии высокопроизводительных методов транскриптомного профилирования отдельных клеток (scRNA-Seq) для решения этой проблемы. Таким образом, целью работы является разработка метода «цифрового сенсора» для детекции распределения фитогормонов в растительных тканях по данным scRNA-seq и его реализация в виде R пакета iSensor.
Материалы и методы: Распознавание сайтов связывания транскрипционных факторов семейства ARF в регуляторных районах генов *Arabidopsis thaliana* для создания панелей генов «цифрового сенсора» фитогормона ауксина осуществляли методом консенсуса и позиционных весовых матриц. Чувствительность генов к ауксину определяли по данным RNA-seq из открытых источников. Для расчета сигнала «цифрового сенсора» использовали среднее значение или медиану уровней экспрессии генов панели (нормированных или не нормированных на общий уровень экспрессии всех генов). Программа iSensor реализована на языке R.
Результаты: Концептуально iSensor представляет собой совокупность панели генов P с определенными свойствами и функции $f(P,E)$, которая возвращает числовое значение «сигнала сенсора», вычисленное на основании значений экспрессии генов панели. Чтобы значение функции $f(P,E)$ коррелировало с концентрацией фитогормона, гены в панели должны быть чувствительных к повышению уровня гормона и при этом достаточно равномерно экспрессироваться в клетках с низкой его концентрацией. Мы продемонстрировали состоятельность предлагаемого подхода на примере «цифрового сенсора» для фитогормона ауксина. В рамках этой работы разработаны несколько альтернативных панелей генов *Arabidopsis thaliana*, а также набор функций, вычисляющих «сигнал сенсора». Определены оптимальные панели генов и функции для корректной оценки уровня ауксина. Тестирование показало, что iSensor демонстрирует хорошую точность.
Выводы: Учитывая рост данных scRNA-seq в открытом доступе, R пакет iSensor является простым и эффективным инструментом для детекции ответа на фитогормоны в растительных тканях.

doi 10.18699/PlantGen-2025-177

Кооперативное действие транскрипционных факторов в регуляции первичного транскрипционного ответа генов на цитокинины у *Arabidopsis thaliana* L.

Ю.А. Рябов[1]*, В.А. Долгих[1], Е.В. Землянская[1, 2]
[1] *Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия*
[2] *Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия*
* *RyabovYA@bionet.nsc.ru*

Цель: Цитокинины – это важнейший класс фитогормонов, регулирующих деление и дифференцировку растительных клеток. На организменном уровне эти фитогормоны контролируют широкий спектр процессов, включая разметку зародыша в эмбриогенезе, разметку меристем и закладку латеральных органов в онтогенезе, прорастание семян, цветение и формирование пола, старение листьев, а также рост растений в условиях стресса. Понимание механизмов, обеспечивающих запуск цитокининами конкретной генетической программы из многообразия контролируемых ими сценариев, является одной из фундаментальных задач биологии развития растений. Регуляторами первичного транскрипционного ответа генов на цитокинины являются транскрипционные факторы (ТФ) семейства B-ARR, которые активируются путем фосфорилирования в результате включения сигнального пути цитокинина. Известны примеры кооперативного действия представителей B-ARR с ТФ других семейств (так называемыми ТФ-партнерами) в регуляции экспрессии отдельных генов. Мы полагаем, что такой механизм может быть более универсальным, вовлекать большее количество ТФ и генов-мишеней и в результате вносить весомый вклад в модуляцию первичного ответа на цитокинины, например, в различных типах клеток, состав экспрессирующихся ТФ в которых существенно различается. Однако системных исследований этого вопроса ранее не проводилось. Целью данной работы является исследование вклада кооперативного действия транскрипционных факторов в регуляцию первичного транскрипционного ответа генов на цитокинины у *Arabidopsis thaliana* на основании биоинформатического анализа данных ChIP-seq и RNA-seq.

Материалы и методы: В работе использованы публично доступные полногеномные ChIP-seq-профили связывания ТФ ARR1, ARR10 и ARR12 *A. thaliana*, а также результаты транскриптомного профилирования проростков или отдельных органов *A. thaliana* в присутствии и в отсутствии цитокинина методами RNA-seq и ДНК-микрочипов. *De novo* поиск мотивов и анализ их колокализации в пиках, а также оценка взаимосвязи мотивов и потенциальных композиционных элементов с активацией или подавлением экспрессии генов под действием цитокинина осуществляли с использованием разработанного нами ранее конвейера SFmotif. Поиск центрально-обогащенных мотивов в пиках ChIP-seq осуществляли с помощью программы CentiMo. Для дополнительного исследования колокализации мотивов в пиках использовали программу MetArea.

Результаты: Выявлены наборы ДНК-мотивов, обогащенных в пиках ChIP-seq ARR1, ARR10 и ARR12. Помимо известного сайта связывания ТФ семейства B-ARR (RGATY) для каждого ТФ выявлено большое количество неродственных ему обогащенных мотивов, которые с высокой вероятностью соответствуют сайтам связывания ТФ-партнеров. Результаты детального анализа совместной встречаемости сайтов связывания представителей B-ARR и их партнеров в пиках ChIP-seq, а также оценка центрального обогащения мотивов свидетельствуют в пользу того, что ТФ партнеры либо полностью опосредуют связывание B-ARR с ДНК (piggy-back взаимодействие), либо B-ARR и ТФ-партнер связывают удаленные в геноме, но сближенные в трехмерном пространстве сайты, что делает возможным взаимодействие между белками. Показано, что гены, кодирующие некоторые из потенциальных партнерских ТФ, чувствительны к цитокинину. На основании этих данных реконструированы петли прямой связи, которые могут модулировать первичный ответ генов на цитокинин в зависимости от продолжительности действия или концентрации фитогормона.

Выводы: Полученные результаты свидетельствуют в пользу того, что кооперативное действие транскрипционных факторов вносит существенный вклад в регуляцию транскрипционного ответа генов на цитокинин у *A. thaliana.*

doi 10.18699/PlantGen-2025-178

Влияние теплового шока на редактирование мРНК ndhB

Н.А. Саввина[1, 2]*, Е.А. Лысенко[1]
[1] *Институт физиологии растений Российской академии наук, Москва, Россия*
[2] *Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва, Россия*
* *savnat04@gmail.com*

Цель: Изучить ингибирование тепловым шоком (ТШ) процесса редактирования РНК в хлоропластах на примере гена ndhB.
Материалы и методы: Семидневные проростки кукурузы помещали в термостаты и выдерживали еще двое суток при температуре 24, 37, 42 или 46 °С. Затем из листьев выделяли хлоропластную РНК и синтезировали кДНК. ПЦР-продукты гена ndhB, разделяли в геле на сплайсированные и несплайсированные, элюировали, проводили секвенирование по Сэнгеру и сравнивали высоту пиков Т и С при разных температурах, а также в сплайсированных и несплайсированных транскриптах.
Результаты: Пробный эксперимент показал, что ТШ в различной степени влияет на редактирование мРНК. Сайты 2 и 4 оставались полностью отредактированными вплоть до 46 градусов; сайт 1 полностью редактировался в сплайсированном варианте и только слабо ингибировался в несплайсированном; редактирование сайтов 3 и 5 при ТШ заметно подавлялось в сплайсированном продукте и очень сильно – в несплайсированном.
Выводы: Тепловой шок ингибирует редактирование РНК в хлоропластных генах. При этом ТШ в разной степени влияет на редактирование различных сайтов: от отсутствия эффекта ингибирования до практически полного подавления редактирования РНК. Также можно предполагать, что ТШ в большей степени ингибирует редактирование РНК в несплайсированных транскриптах, чем в сплайсированных.

doi 10.18699/PlantGen-2025-179

Солевой стресс сортов овса Тюменской селекции

Ю.В. Савельева
НИИСХ Северного Зауралья, филиал ТюмНЦ Сибирского отделения Российской академии наук,Тюмень,Россия
savelyeva25@mail.ru

Цель: Определение степени устойчивости генотипов овса Тюменской селекции к хлоридному и сульфатному засолению.

Материалы и методы: Были изучены пленчатые сорта местной селекции: Мегион; Талисман; Отрада; Фома; Тоболяк; Радужный и Сириус. В опыте были смоделированы два типа засоления: хлоридный (NaCl) и сульфатный (Na2SO4), которые являются наиболее характерными для Западной Сибири. Для определения пороговой концентрации солей, вызывающей стресс у овса на начальном этапе онтогенеза, были использованы растворы с концентрациями 1,0; 3,0 и 5,0 г/л. В качестве контроля применяли дистиллированную воду. Через 3 суток определяли энергию прорастания, через 7 суток – лабораторную всхожесть. Параллельно этому снимали следующие показатели: длину корешков и проростков у каждого растения. Далее отделяли корешки и проростки, объединяли их в усредненную пробу и высушивали до воздушно-сухого состояния с последующим взвешиванием. Опыт проводили в четырех биологических повторностях.

Результаты: Подсчет проросших семян на третьи сутки показал наличие сортовой реакции овса на химизм засоления и концентрацию солей. При минимальном содержании сульфата натрия (1 г/л) энергия прорастания сортов Мегион и Отрада достоверно уменьшилась относительно контроля до 91 и 76% соответственно. Увеличение концентрации до 3 г/л не оказало воздействия на сорта Талисман; Тоболяк и Радужный – энергия прорастания была на уровне контроля. Сорта Мегион и Отрада выделялись резким снижением темпов прорастания – 42 и 57% относительно контроля. Концентрация Na2SO4 на уровне 5 г/л наиболее показательна, поскольку при ней начинают проявляться защитные механизмы растения на засоление. У остальных сортов отмечалась четкая негативная реакция на концентрацию 5 г/л.При хлоридном засолении наблюдалась аналогичная реакция, которая проявилась также при минимальной концентрации (1 г/л хлорида натрия). Энергия прорастания Талисмана и Сириуса составила 83%. У остальных сортов она была на уровне контроля. Необходимо отметить, что 3 г/л NaCl вызвало стресс только у Фомы и Сириуса.

Лабораторные исследования показали, что число проросших семян изучаемых сортов при низких концентрациях NaCl и Na2SO4 (1 и 3 г/л) не отличается от контроля. При концентрации 5 г/л сульфата натрия сорта Талисман и Фома достоверно снизили всхожесть до 88–89% относительно контроля.

Биомасса проростков – один из важнейших показателей состояния растения на начальных этапах онтогенеза. При отсутствии засоления общая биомасса растений на 7-е сутки проращивания варьировала от 0,43 г (Мегион) до 0,98 г (Фома). При концентрации сульфата натрия до 3 г/л все сорта овса, за исключением Тоболяка увеличили биомассу, что указывает на явный стимулирующий эффект. При хлоридном засолении стимулирующий эффект от минимальной концентрации (1 г/л) отмечен на сортах Фома и Радужный. Необходимо отметить, что сорт Тоболяк уже при минимальной концентрации негативно реагировал на хлорид натрия. Концентрация 3 г/л NaCl обеспечила эффект стимулирования у всех изучаемых сортов, кроме Тоболяка и Сириуса, у которых общая биомасса была на уровне контроля.

Выводы: Используя комплекс показателей, был составлен ряд степени устойчивости сортов овса к засолению от чувствительных к высокоустойчивым:

Na2SO4: Радужный >Мегион >Талисман > Фома > Сириус > Тоболяк > Отрада;

NaCl: Сириус > Радужный > Мегион > Фома > Тоболяк > Талисман > Отрада.

Генотипы Талисман, Отрада и Тоболяк рекомендуются как перспективные родительские формы в селекционном процессе для создания солеустойчивых сортов овса.

Финансирование: Работа выполнена за счет государственного задания 124022900011-6 и при поддержке Западно-Сибирского межрегионального научно-образовательного центра мирового уровня.

doi 10.18699/PlantGen-2025-180

Разработка и валидация KASP-маркеров для селекции озимой пшеницы

М.А. Самарина[1]*, М.С. Баженов[1], А.С. Ермолаев[1], А.В. Архипов[1], В.М. Трипутин[2], Ю.Н. Кашуба[2], А.Н. Ковтуненко[2], М.Е. Мухордова[2], П.Ю. Крупин[1], Г.И. Карлов[1], М.Г. Дивашук[1]

[1] *Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», Москва, Россия*

[2] *ФГБНУ «Омский аграрный научный центр», Омск, Россия*

* *samarina.homa@yandex.ru*

Цель: Для эффективного ведения секционного процесса озимой пшеницы и получения новых сортов необходимо комбинирование классических методов (подбор родительских форм, фенотипическая оценка) с современными методами молекулярной генетики. При выведении современных сортов делается упор на хозяйственно ценных признаках, особое внимание уделяется качеству зерна, адаптивности сорта и устойчивости к грибным и бактериальным заболеваниям. Генотипирование сортов и перспективных линий озимой пшеницы дает представление о генетической структуре популяции, уровне ее полиморфизма и может помочь выявить эффективные маркеры, связанные с хозяйственно ценными признаками. Метод GWAS позволяет выявить связи между фенотипическими проявлениями признака и вариациями генотипа, например SNP. Статистически значимо ассоциированные SNP могут быть использованы, как маркеры для хозяйственно ценных признаков.

Материалы и методы: В ходе исследования был проведен GWAS на коллекции сортов озимой пшеницы. Генотипирование растений проводили с использованием SNPSeq. Постановку конкурентной аллель-специфичной ПЦР проводили в соответствии с руководством пользователя предоставляемым производителем, по следующей циклограмме: первичная денатурация 94 °C – 15 мин, 1 цикл; 94 °C – 20 с, 63 °C, 1 мин с понижением температуры на 0,6 °C каждый цикл в течение 9 циклов; 94 °C – 20 с, 58 °C – 1 мин в течение – 35 циклов; 37 °C – 1 мин – считывание сигнала. Для обработки данных и проведения анализа использовались амплификатор CFX96 (Bio-Rad, Франция/США) и программное обеспечение CFX Manager.

Результаты: В результате анализа были обнаружены SNP, ассоциированные с высотой растений, массой 1000 зерен, наличием остей и сроками колошения. На основании отобранных SNP были разработаны и валидированы KASP-маркеры. Разработанные маркеры показали хорошую дискриминирующую способность и были протестированы на коллекции из 186 сортов и перспективных линий озимой пшеницы. В результате анализа были выявлены образцы, несущие набор ценных аллелей. Для дальнейших исследований были отобраны маркеры, имеющие статистически значимую ассоциацию с изменением фенотипа.

Выводы: Разработанные маркеры могут быть использованы для генотипирования коллекций озимой пшеницы с целью выявления форм с лучшими качествами и дальнейшего использования их в селекционном процессе.

Финансирование: Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, государственное задание FGUM-2025-0001.

doi 10.18699/PlantGen-2025-181

Определение новых рекомбинантных штаммов Y вируса картофеля для дизайна двуцепочечной РНК

В.О. Самарская[1]*, Н.О. Калинина[1, 2], М.Э. Тальянский[1]
[1] *Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва, Россия*
[2] *Институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*
** viktoriya.samarskaya2012@yandex.ru*

Цель: Изучение организации геномов новых рекомбинантных штаммов Y вируса картофеля (PVY) для идентификации консервативных последовательностей с целью создания РНК-препаратов, эффективных против всех известных штаммов PVY для защиты растений картофеля.
Материалы и методы: Клубни картофеля, полученные в полевых условиях, были собраны в Астраханской области. Апикальные почки, вырезанные из клубней, проращивали в теплице при температуре 21–22 °C. Образцы для выделения РНК отбирали на стадии 5–8 листьев проростков через 3–4 недели после посадки. Выделение РНК проводили согласно методики, описанной в работе Samarskaya et al. (2023). Секвенирование полиаденилированной фракции РНК выполнено на платформе Illumina NovaSeq 6000 и проведен биоинформатический анализ данных.
Результаты: Собраны вирусные контиги *de novo* из NGS библиотек клубневых полевых образцов картофеля. Помимо известных рекомбинантных геномов PVY разных типов (Samarskaya et al., 2023), мы обнаружили два контига, демонстрирующих более низкую гомологию (97–98%) с известными изолятами PVY из GenBank, которые содержали неизвестные комбинации участков родительских типов PVY (PVY^N и PVY^O). Новые контиги мы обозначили как Ast-A-I и Ast-A-II. Для филогенетического и рекомбинационного анализа контигов PVY использовали репрезентативную выборку полных геномных последовательностей всех известных типов PVY и их рекомбинантов из базы данных NCBI. Исследование показало, что две точки рекомбинации (RJ) в новых геномах PVY располагались в стандартных позициях 2,390 нт и 9,200 нт, где 5’-конец принадлежал PVY^N, а 3’-конец – PVY^O. В изоляте Ast-A-II дополнительно обнаружена точка рекомбинации в позиции 500 нт с обратным расположением родительских последовательностей (5’-PVY^O/3’-PVY^N). Особый интерес представляет новая, ранее не описанная RJ в позиции 7,850 нт генома PVY. Для верификации результатов биоинформатического анализа проведена ОТ-ПЦР и секвенирование по Сэнгеру участков, включающих точки рекомбинации в вирусных последовательностях Ast-A-I и Ast-A-II. Результаты показали идентичность 99,7 и 100% с соответствующими контигами. Поскольку новые рекомбинанты между собой различаются только в 5’-концевой области, их последовательности полностью совпадают в точках рекомбинации 7,850 и 9,200 нт. Анализ ПЦР-продуктов подтвердил высокую степень идентичности с исходными последовательностями: для участка, содержащего точку рекомбинации 7,850 нт, идентичность составила 99,8%; для участка с точкой рекомбинации 9,200 нт наблюдалась 97,8% идентичность с рекомбинантными контигами. Небольшие различия в идентичности (97,8% для RJ 9,200 нт) могут отражать естественный полиморфизм вирусной популяции или технические особенности секвенирования. Затем для поиска консервативного участка в геноме PVY с учетом геномов 10 известных рекомбинантных вирусных изолятов и двух новых рекомбинантных геномов PVY был проделан анализ с использованием авторского скрипта.
Выводы: В проростках клубней картофеля из Астраханской области обнаружены два новых рекомбинантных варианта вируса Y картофеля. Эти варианты образовались в результате рекомбинаций между уже существующими рекомбинантными штаммами PVY, а не между «родительскими» штаммами PVY^N и PVY^O. Выявленный сайт рекомбинации в позиции 7850 нт, расположен в гене РНК-зависимой РНК-полимеразы. Данный участок (7850–9200 нт) включает переходную зону между генами РНК-полимеразы и белка оболочки, которая является одной из наиболее вариабельных областей генома потивирусов. Новые штаммы Ast-A-I и Ast-A-II могли первоначально сформироваться в других растениях-хозяевах, характерных для Астраханского региона, с последующей передачей на картофель посредством тлей. Выявление и анализ специфических участков рекомбинации в геноме PVY имеет важное значение для разработки эффективных методов диагностики и создания «зеленых» стратегий для контроля распространения патогена и эффективного подавления его в сельскохозяйственных культурах.
Финансирование: Исследование поддержано Российским научным фондом, грант № 23-74-30003, https://rscf.ru/project/23-74-30003/.

doi 10.18699/PlantGen-2025-182

Идентификация чужеродной хромосомы 2 вида *Gossypium barbadense* L. в беккроссных потомствах хлопчатника с помощью двойного скрининга

М.Ф. Санамьян[1*], Ш.У. Бобохужаев[1], Ш.С. Абдукаримов[2]
[1] *Национальный университет Узбекистана, Ташкент, Республика Узбекистан*
[2] *Центр геномики и биоинформатики Академии наук Республики Узбекистан, Ташкент, Республика Узбекистан*
* *sanam_marina@rambler.ru*

Цель: анализ беккроссных гибридов (BC_1F_1 и BC_2F_1) с участием моносомных линий с нехваткой хромосомы 2 A_t-субгенома с целью выяснения особенностей поведения чужеродной хромосомы в процессе беккроссирования для получения линий с чужеродным замещением *G. hirsutum* L./*G. barbadense* L.

Материалы и методы: Три моносомные линии (Mo11, Mo16, Mo19) с нехваткой хромосомы 2 A_t-субгенома хлопчатника *G. hirsutum* L. были получены в M_1 (в дозе 20, 25 и 25 Gr соответственно), а одна линия (Mo93) – в M_3 после облучения пыльцы в дозе 10Gr. Молекулярно-генетический скрининг проводился на стадии проростков, где геномную ДНК выделяли из молодых листочков беккроссных проростков методом CTAB. Продукты ПЦР визуализировали в 3,5% агарозном геле высокого разрешения, окрашивали бромистым этидием и фотодокументировали с помощью системы документирования геля Alpha Imager. Отсутствие продуктов амплификации SSR-маркеров, локализованных на хромосоме 2 вида *G. hirsutum*, и присутствие маркеров хромосомы 2 вида *G. barbadense* оценивали как замещение соответствующей хромосомы хлопчатника гомеологичной хромосомой вида *G. barbadense.* Цитогенетический анализ беккроссных гибридов проводили с помощью анализа МКП после окраски железо-ацетокармином. На давленых препаратах на стадии MI учитывали характер конъюгации хромосом. Для анализа стадии спорад анализировали по три бутона от каждого растения и подсчитывали процент нормальных тетрад от общего количества спорад. Фертильность пыльцы оценивали после окраски в ацетокармине, путем анализа 10 полей зрения с каждого цветка. Для анализа препаратов, создания изображений использовали световой микроскоп AxioScopeA1 с цифровой фотокамерой MikroskopkameraAxioCamERc5s.

Результаты: Молекулярно-генетический анализ беккроссных проростков с помощью молекулярных маркеров (SSR) был выполнен у растений BC_1F_1 с участием четырех линий с нехваткой хромосомы 2 A_t-субгенома (Mo11, Mo16, Mo19 и Mo93). В результате изучения пяти беккроссных семей в варианте BC_1F_1(Mo11xF_1(766_3)) был обнаружен один проросток (494_2); анализ других пяти семей в варианте BC_1F_1(Mo16xF_1(98_6)) выявил семь проростков; исследование одной семьи в варианте BC_1F_1(Mo19xF_1(769_4) определило один проросток (8_8); тогда как в четырех семьях варианта BC_1F_1(Mo93xF_1(516_4)) выявилось девять проростков, которые характеризовались присутствием аллелей только от *G. barbadense*, тогда как аллели вида *G. hirsutum* отсутствовали, что было обнаружено при получении ПЦР-продуктов в результате амплификации хромосом-специфичных SSR-маркеров. Однако изучение проростков из двух семей BC_2F_1 в варианте BC_2F_1(Mo16xBC_1F_1(923_7)) обнаружило присутствие хромосом-специфичных аллелей только от *G. hirsutum*, тогда как аллели *G.barbadense* отсутствовали, что указало на отсутствие замещения хромосомы 2 у этих проростков, тогда как SSR-анализ одного проростка из двух семей в варианте BC_2F_1(Mo93xBC_1F_1(88_4)) выявил присутствие аллелей от *G.barbadense*, а аллели вида *G. hirsutum* не были обнаружены, что подтвердило замещение хромосомы 2 у этого проростка. Анализ метафазы I мейоза у 16 моносомиков BC_1F_1 показал модальную конъюгацию хромосом с 25 бивалентами и одним унивалентом большого размера, а такой же анализ у семи моносомиков BC_2F_1 в двух вариантах скрещиваний указал, что шесть моносомиков в варианте BC_2F_1(Mo16xBC_1F_1(923_7)) с унивалентными хромосомами *G. hirsutum* и один моносомик из варианта BC_2F_1(Mo93xBC_1F_1(88_4)) с унивалентной хромосомой *G. barbadense* не имели различий по конъюгации хромосом. Большинство моносомиков BC_1F_1 отличалось высоким мейотическим индексом, что указало на регулярное расхождение унивалентных хромосом. Однако один моносомик с унивалентной хромосомой *G. hirsutum* в варианте BC_1F_1(Mo16xF_1(98_2)) и другой – с замещением хромосомы 2 в варианте BC_1F_1(Mo93xF_1(516_4)) продемонстрировали снижение мейотического индекса (до 88,57±1,13) и увеличение числа тетрад с микроядрами (до 5,15±0,78%). Это указало на нарушения в расхождении хромосом и формировании несбалансированных гамет у моносомиков BC_1F_1 с замещением хромосомы 2 или ее отсутствием. У многих моносомиков BC_1F_1 наблюдалось снижение фертильности пыльцы после окраски ацетокармином (до 62,65±2,15%) и только два моносомика с отсутствием замещения хромосомы 2 имели высокую фертильность. Изучение моносомиков BC_1F_1 показало, что замещение хромосомы 2 A_t-субгенома хлопчатника *G. hirsutum* на хромосому вида *G. barbadense* привело к карликовости и снижению жизнеспособности, поскольку они характеризовались медленным ростом и отсутствием цветения в первый год вегетации.

Выводы: Снижение скрещиваемости и завязываемости беккроссных семян было обусловлено их снижением у исходных моносомных линий вследствие присутствия большого количества нуллисомных гамет. Уровень передачи чужеродных хромосом варьировал от 3,13 (Mo11) до 42,86% (Mo93) в поколении BC_1F_1 и до 12,50 (Mo93) в поколении BC_2F_1, где только с участием двух линий были получены моносомики из-за задержки цветения и плодоношения в первый год вегетации у двух других. Высокая частота элиминации хромосомы 2 у беккроссных моносомиков с участием линии Mo16 (54,55) указала на влияние конкретного генотипа на этот процесс. Использование SSR-маркеров на стадии проростков позволяло проводить эффективный скрининг присутствия чужеродной хромосомы в последовательных беккроссах, что значительно ускоряло и облегчало весь процесс.

Финансирование: Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства высшего образования, науки и инноваций РУз проекта Ф-ОТ-2021-155.

doi 10.18699/PlantGen-2025-183

Влияние ионов тяжелых металлов на длину теломер у *Marchantia polymorpha*

А.В. Санникова[1]*, М.Р. Шарипова[1], Е.В. Шакиров[1, 2], Л.Р. Валеева[1, 2]
[1] *Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань, Россия*
[2] *Department of Biological Sciences, College of Science, Marshall University, USA*
* *anastasya.sannikova@bk.ru*

Цель: Определить влияние абиотического стресса, в частности ионов тяжёлых металлов на длину теломер бриофита *Marchantia polymorpha* дикого типа и линиях, мутантных по генам-кандидатам теломерного белкового комплекса и нарушению развития таллома.

Материалы и методы: В работе использовали культуру модельного печеночника *M. polymorpha* Takaragaike-1 (Tak-1, мужское растение; Япония) и Takaragaike-2 (Tak-2, женское растение; Япония). Мутантные линии *M. polymorpha* по генам-кандидатам белков теломерного комплекса *MpTRFL* (Tak-1) и *MpTBP* (Tak-2), а также мутантные растения по гену α-субъединицы пренилтрансфераз белков *MpPLP* были подучены методом CRISPR/Cas9 редактирования генома. Для анализа изменения ответных реакций растений дикого типа и растений-нокаутов на абиотический стресс ткани дикого типа и ткани мутантов выращивали на среде GB5 в стандартных условиях: дикий тип и мутантные линии *MpTRFL* и *MpTBP* – в течение 14 дней, ткани мутантов *MpPLP* – за 28 дней к началу эксперимента. Переносили растения на среду GB5 с добавлением 2 мМ $ZnCl_2$ и выращивали в течение 7 дней. Далее ткани отбирали для анализа длины теломер методом TRF analysis (анализ терминальных рестрикционных фрагментов) совместно с Саузерн-блот анализом. Среднюю длину теломер рассчитывали с помощью программы WALTER.

Результаты: 1) Нами были получены растения-нокауты по генам *MpTRFL* и *MpTPB*, гомологичным генам *AtTRFL6* и *AtTBP2 A. thaliana*, которые, в свою очередь, являются гомологами TRF белков шелтеринового комплекса теломер человека. Было показано, что растения-нокауты по гену *MpTRFL* имеют нарушения в развитии таллома. Также были получены растения-нокауты по гену *MpPLP* α-субъединицы пренилтрансфераз белков, регулирующих многочисленные процессы в растениях, в том числе ответ на абиотический стресс и клеточную адгезию. Мутанты *MpPLP* имели серьезные нарушения в развитии таллома. На среде с $ZnCl_2$ растения оставались жизнеспособными в течение 8 суток. На 6–7-е сутки у всех растений на среде с $ZnCl_2$ на поверхности таллома образовывалась влага, растения замедлялись в росте, визуально наблюдалось появление некротических зон на краевых участках талломов дикого типа, а также в тканях растений-нокаутов.

2) Мы сравнили распределение длин теломер у дикого вида печеночника *M. polymorpha*. TRF-анализ показал, что среднее значения длины теломер у мужского растения (Так-1) составляет 2,15 ± 0,25 т.п.о. у женского растения (Так-2) длина теломер составляет 2,45 ± 0,25 т.п.о. Женская линия имела более длинные теломеры, в связи с чем, длину теломер мутантных линий растений сравнивали с соответствующим диким типом. В свою очередь, рост в присутствии ионов Zn^{2+} приводил к небольшому уменьшению среднего значения длины теломер у растений дикого типа примерно на 100 т.п.о.

3) Было показано, что средняя длина теломер растений-нокаутов *MpTRFL*, в исследуемом гене которых произошла инсерция 12 п.о., примерно на 300 т.п.о. меньше, чем в диком типе и составляет ~ 1750 т.п.о. Как у растений- нокаутов по гену *MpTRFL*, так и у растений дикого типа при росте на среде с добавлением ионов Zn^{2+} среднее значение длины теломер увеличивалось на 100–200 т.п.о., и составляло ~ 2000 и ~2200 т.п.о. соответственно.

4) Средняя длина теломер растений-нокаутов *MpTBP* в исследуемом гене которых произошла делеция основания, составляет ~ 2000 т.п.о., что на 450 т.п.о. меньше, чем в диком типе, однако, рост в присутствии ионов Zn^{2+} также приводил к небольшому увеличению среднего значения длины теломер примерно на 125 т.п.о., и составлял ~ 2125 т.п.о.

5) Мы также проанализировали длину теломер в мутантном растении Tak-1 *MpPLP*. Средние значения TRF составляет ~1650 т.п.о., что на 500 т.п.о. меньше, чем в диком типе. Однако в отличие от растений дикого типа у растений-нокаутов по гену *MpPLP* при росте на среде с добавлением ионов Zn^{2+} среднее значение длины теломер не изменялось.

Выводы: Нами показано, что два обнаруженных гена-кандидата белков теломерного комплекса участвуют в регуляции длины теломер *M. polymorpha*. Кроме того, было показано, что тяжелые металлы ($ZnCl_2$) влияют на длину теломер: стрессовые условия приводили к удлинению теломер как дикого типа, так и нокаутов по теломерным генам. Кроме того, было показано, что мутация в гене пренилтрансферазы белков *MpPLP* приводит не только к нарушению формирования таллома и дифференцировки клеток, но также к изменению в регуляции стабильности хроматина, в частности поддержания длины теломер. При этом в условиях стресса от ионов цинка мутанты *MpPLP* сохраняют стабильную длину теломер.

Финансирование: Работа выполнена в рамках программы стратегического академического лидерства «Приоритет-2030».

doi 10.18699/PlantGen-2025-184

Особенности укоренения *in vitro* сортов княженики (*Rubus arctucus* L.) финской селекции

А.О. Сахаров[1], С.С. Макаров[2]*, А.В. Савин[1]
[1] *Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва, Россия*
[2] *Северный (Арктический) федеральный университет им. М.В. Ломоносова, Архангельск, Россия*
** makarov_serg44@mail.ru*

Цель: выявить сортовые особенности укоренения микропобегов растений княженики арктической финской селекции в культуре *in vitro*.
Материалы и методы: В качестве объектов исследования изучали растения княженики арктической (*Rubus arcticus* L.) 4 сортов финской селекции: Anna, Beata, Linda, Sofia. Работы по клональному микроразмножению растений проводили по общепринятым методикам с использованием культуральной среды Мурасиге–Скуга (МС). В качестве эксплантов на этапе введения в культуру *in vitro* использовали апикальные меристемы. На этапе укоренения микропобегов *in vitro* в культуральную среду добавляли индолилуксусную (ИУК) и нафтилуксусную (НУК) кислоты в концентрациях 1,0 и 2,0 мл/л. В эксперименте были следующие варианты опыта: МС + ИУК 1,0 мл/л; МС + ИУК 2,0 мл/л; МС + НУК 1,0 мл/л; МС + НУК 2,0 мл/л; ½ МС + ИУК 1,0 мл/л; ½ МС + ИУК 2,0 мл/л; ½ МС + НУК 1,0 мл/л; ½ МС + НУК 2,0 мл/л. Растения культивировали при фотопериоде 16 ч/8 ч (световой/темновой период), при температуре воздуха +22 °С. Повторность опыта трехкратная, по 10 растений в каждой.
Результаты: Ранее авторами была проведена работа по клональному микроразмножению княженики на этапах введения в культуру *in vitro* и собственно микроразмножения. Частота укоренения микропобегов княженики для всех сортов составила 100%. Количество корней варьировало от 2,5 до 6,5 см. При клональном микроразмножении растений княженики на этапе ризогенеза в культуре *in vitro* наибольшая суммарная длина корней выявлена у сортов Linda и Sofia при выращивании на культуральной среде МС с добавлением 2,0 мл/л ИУК (в среднем 9,1–10,0 см), что в среднем в 1,4 раза больше, чем при добавлении НУК в той же концентрации. Для сортов княженики Anna и Beata наибольшие величины этого показателя были при культивировании на среде ½ МС с 2,0 мл/л ИУК (в среднем 13,6–13,8 см), тогда как в варианте с НУК при той же концентрации этот показатель был в 3,5–5,2 раза меньше. С повышением концентрации ИУК в культуральной среде МС от 1,0 до 2,0 мл/л суммарная длина корней княженики сортов Linda и Sofia увеличивалась незначительно (в среднем в 1,11–1,14 раза). Такое же повышение концентрации ИУК в среде ½ МС способствовало незначительному увеличению суммарной длины корней растений княженики сорта Beata (в 1,05 раза), а для сорта Anna – в 1,53 раза.
Выводы: В результате проведенных исследований были усовершенствованы элементы технологии культивирования растений княженики финских сортов *in vitro*. При клональном микроразмножении княженики арктической на этапе ризогенеза побегов рекомендуется для сортов Anna и Beata использовать добавление 2,0 мл/л индолилуксусной кислоты в культуральную среду МС, для сортов Linda и Sofia – в среду ½ МС. Полученные результаты исследований могут быть использованы для совершенствования технологии массового получения посадочного материала княженики.

doi 10.18699/PlantGen-2025-185

Оценка селекционной ценности образцов мягкой яровой пшеницы по массе 1000 зерен и массе зерна с растения с использованием BLUP-модели

Г.Р. Свищёва*, А.С. Злобин, И.В. Зоркольцева, Я.А. Цепилов, И.Н. Леонова, Е.А. Салина
Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
** gulsvi@mail.ru*

Цель: Оценка селекционной ценности образцов мягкой яровой пшеницы по двум хозяйственно ценным показателям: масса 1000 зерен и масса зерна с растения – с использованием метода, основанного на BLUP-модели.

Материалы и методы: В исследовании использовали коллекцию из 157 российских сортов и интрогрессивных линий мягкой яровой пшеницы. Коллекция включала 105 сортов, 48 интрогрессивных линий и 3 образца диких родственников (*Triticum dicoccum*, *Triticum timopheevii*, *Triticum kiharae*). Интрогрессивные линии получены на основе гибридизации с видами *T. durum*, *T. dicoccum*, *T. dicoccoides* и *T. timopheevii* и синтетической гексаплоидной пшеницей *T. kiharae* (Leonova et al., 2020; Potapova et al., 2023).

Анализировали два признака: масса 1000 зерен (m1000) и масса зерна с растения (mass). Для каждого образца каждый признак измеряли в четырех точках (два измерения в 2018 году и два измерения в 2019 году). Образцы пшеницы генотипировали маркерами SNP с помощью платформы Illumina Infinium 15K Wheat (TraitGenetics, Германия).

После выравнивания SNP относительно референсного генома пшеницы и контроля качества (частота минорных аллелей < 1%, доля пропусков < 5%) оставлено 12 829 SNP (общий уровень генотипирования 98,24%). Для исключения тесного сцепления провели процедуру LD-прунинга (PLINK, параметры: --indep-pairwise 500kb 1 0,2), в результате отобрано 7517 SNP.

Для каждого признака и каждого образца вычислили среднее значение по четырем фенотипическим измерениям. Оценку наследуемости признаков рассчитывали как отношение генетической компоненты дисперсии к общей фенотипической дисперсии. Матрицу геномного родства (GRM) между образцами вычисляли для SNP с качеством генотипирования выше 98% с помощью программы PLINK с последующей нормализацией GRM. Нормальность распределения фенотипов проверяли с помощью теста Шапиро–Уилка.

Оценку генетической ценности образцов пшеницы (селекционная ценность) по каждому признаку вычисляли с помощью команды GCTA «--reml-pred-rand» для предсказания общего генетического эффекта (сортовой ценности) для каждого образца, обусловленного совокупным эффектом SNP, используемых для оценки GRM. Для оценки вклада отдельных SNP использовали команду GCTA «--blup-snp».

Для проверки валидности полученных BLUP-оценок применили метод k-кратной кросс-валидации (k-fold cross-validation). Выборку случайным образом разделили на пять частей, одна из которых выступала в качестве тестовой популяции, а остальные – в качестве тренировочной. Каждый признак анализировали отдельно, схема анализа представлена в нашей работе (Потапова et al., 2024).

Результаты: Анализ нормальности распределения выявил незначительные по величине отклонения от нормального распределения: для массы 1000 зерен (m1000) W = 0,97 (p = 0,011), для массы зерна с растения (mass) W = 0,98 (p = 0,013). Поскольку BLUP-метод обладает устойчивостью к умеренным отклонениям от нормальности распределения, полученные оценки можно считать надежными. Оба изучаемых признака продемонстрировали высокую наследуемость: для массы 1000 зерен составила $h^2 = 0,75 \pm 0,11$ и для массы зерна с растения $h^2 = 0,73 \pm 0,10$.

Для 30 лучших сортов, показавших наивысшие значения признаков, по каждому признаку оценили селекционный дифференциал. Установлено, что средняя селекционная ценность этих сортов достоверно превышала среднюю селекционную ценность всей исследованной популяции. Результаты пятикратной кросс-валидации подтвердили высокую прогностическую способность модели: для m1000: $R^2 = 0,74$ ($p<0,002$) и для mass: $R^2 = 0,68$ ($p<0,002$).

Выводы: Полученные результаты демонстрируют возможность применения модели геномной селекции на ограниченных по размеру выборках. Метод BLUP показал хорошую эффективность для обоих анализируемых признаков и пригоден для оценки селекционной ценности сортов пшеницы. Высокая наследуемость признаков и значимые корреляции между предсказанными и фактическими значениями подтверждают перспективность данного подхода для селекции пшеницы.

Финансирование: Исследование поддержано грантом Российского научного фонда № 21-76-30003-П, https://rscf.ru/project/21-76-30003/.

doi 10.18699/PlantGen-2025-186

Сайленсинг генов AKR2 в растениях *Nicotiana benthamiana*

И.В. Селифонов[1]*, А.Г. Соловьев[1, 2]
[1] *Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*
[2] *НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Москва, Россия*
* *selifonov2002@gmail.com*

Цель: Жизненный цикл вирусов растений включает их межклеточный транспорт через плазмодесмы – регулируемые каналы, соединяющие клетки растения в единый симпласт. В процессе эволюции вирусы приобрели гены, продукты которых обеспечивают транспорт вирусного генома через плазмодесмы и носят название транспортных белков. Одним из хорошо изученных примеров генов транспортных белков вирусов растений является тройной блок генов (TGB) Х-вируса картофеля (PVX), кодирующий белки TGB1, TGB2 и TGB3. Ранее путем скрининга с использованием дрожжевой двугибридной системы было выяснено, что белок TGB2 взаимодействует с продуктами трех близкородственных генов *N. tabacum*, гомологичных генам AKR2 *Arabidopsis thaliana*. В свою очередь, эти белки связываются с β-1,3-глюканазой – ферментом, потенциально задействованным в регуляции пропускной способности плазмодесм посредством гидролиза каллозы. Авторы выдвинули предположение, что белки AKR2 используются вирусом для облегчения его межклеточного транспорта. Цель данной работы заключается в валидации предложенного механизма путем вирус-индуцированного сайленсинга генов AKR2 в *Nicotiana benthamiana*.
Материалы и методы: Поиск с помощью blast в референсном геноме *N. benthamiana* выявил наличие у растения трех гомологов AKR2. Последовательности находок были выравнены, после чего в их выравнивании был определен участок наибольшего сходства. Найденный фрагмент был амплифицирован и клонирован в вектор на основе вируса погремковости табака (TRV). Полученная конструкция была введена в растения *N. benthamiana* методом агроинфильтрации. В растения контрольной группы была доставлена сходная конструкция, содержащая фрагмент гена GFP вместо участка AKR2. Через 12 дней после инфильтрации в образцах листьев шести растений (по три из каждой группы) были измерены уровни экспрессии исследуемых генов методом RT-qPCR с нормализацией на ген F-box-белка.
Результаты: Согласно результатам RT-qPCR в опытной группе относительная экспрессия исследуемых генов была снижена в среднем на 86% по сравнению с контрольной, это отличие было статистически достоверным. При наблюдении за изменениями в фенотипе растений в процессе развития инфекции было отмечено, что растения с сайленсингом генов AKR2 отличались некоторой задержкой роста и хлоротической пятнистостью верхних листьев. В дальнейшем растения со сниженным уровнем экспрессии AKR2 будут использованы для анализа эффективности межклеточного транспорта PVX и внутриклеточной локализации транспортных белков.
Выводы: Методом вирус-индуцированного сайленсинга генов были получены растения *N. benthamiana* со сниженным уровнем экспрессии генов AKR2. Эти растения будут впоследствии использованы в качестве модели для валидации механизма повышения пропускной способности плазмодесм вирусным транспортным белком TGB2.

doi 10.18699/PlantGen-2025-187

Создание и характеристика инсерционной коллекции *Arabidopsis thaliana* для изучения мобилома и функциональной геномики

М.А. Серганова[1, 2]*, П.Ю. Меркулов[1, 2], А.В. Ялтанская[3], И.В. Киров[1, 2]
[1] *Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия*
[2] *Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Москва, Россия*
[3] *Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва, Россия*
* *melany02@mail.ru*

Цель: Создание коллекции растений *Arabidopsis thaliana* с новыми инсерциями транспозонов для изучения первичного контроля инсерций и вызванных ими транскриптомных изменений, а также для функциональной геномики.
Материалы и методы: Определение оптимальных условий теплового стресса для получения линий с высоким числом (>10) новых копий элементов *ONSEN* проводили на популяции растений *A. thaliana* с мутацией в гене *nrpd1*. Для индукции наследуемой транспозиции элементов *ONSEN* у растений *A. thaliana* дикого типа (популяция M0) растения выращивали *in vitro* с применением химических ингибиторов сайленсинга мобильных элементов и теплового стресса. Выявление растений с наибольшим числом инсерций элементов *ONSEN* проводили путем амплификации и нанопорового секвенирования сайтов инсерций *ONSEN* (метод onTEI-seq). Растения M1 с наибольшим количеством независимых инсерций *ONSEN* использовали для оценки структурных, эпигенетических и транскрипционных изменений при помощи нанопорового секвенирования ДНК и кДНК.
Результаты: Экспериментально установленными нами факторами, влияющими на число наследуемых инсерций у растений *nrpd1*, являются возраст растений, а также продолжительность стрессовой обработки. При использовании оптимизированных условий теплового стресса получены более 10000 семян более 100 растений M0 *A. thaliana* дикого типа (семена M1), содержащие новые инсерции ONSEN. Секвенирование индивидуальных растений M1 методом onTEI-seq позволило установить локализацию новых инсерций *ONSEN* в геноме инсерционных мутантов. Растения M1, с наиболее высоким числом копий *ONSEN*, представляют ценный ресурс для изучения:
1) транскриптомных и эпигенетических изменений в сайтах инсерций как в стрессовых, так и нестрессовых условиях;
2) отличий в эпигенетическом контроле инсерций в M1 и потомстве от их самоопыления;
3) фенотипических особенностей растений, возникших вследствие транспозиции.
Выводы: Создана новая генетическая коллекция инерционных мутантов *A. thaliana* с различным числом инсерций ретротранспозона *ONSEN*. Изучение транскриптомных и эпигеномных изменений в созданной нами коллекции растений M1 позволит исследовать закономерности организации новых инсерций в геноме и последствия инсерций на геномном, транскриптомном и эпигеномном уровнях. Созданная коллекция позволит проводить поиск и изучение новых генов, контролирующих важные признаки, и ускорит прогресс в области функциональной геномики растений.
Финансирование: Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 22-74-10055.

doi 10.18699/PlantGen-2025-188

Аллельный полиморфизм генов углеводного обмена у отечественных сортов картофеля с различающимся содержанием крахмала и редуцирующих сахаров в клубнях

Е.М. Сергеева[1], Д.И. Каретников[1], А.С. Батов[2], Ю.А. Гуреева[2], И.А. Сабоиев[1], К.Т. Ларичев[1], К.А. Колошина[2], Д.А. Афонников[1], Е.А. Салина[1], А.В. Кочетов[1]

[1] *Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия*

[2] *СибНИИРС – филиал ИЦиГ СО РАН, р.п. Краснообск, Новосибирская область, Россия*

* *sergeeva@bionet.nsc.ru*

Цель: Картофель *Solanum tuberosum* является важной сельскохозяйственной культурой и одним из основных продуцентов крахмала. Такие признаки как содержание сухого вещества и крахмала в клубнях, а также уровень накопления редуцирующих сахаров в условиях хранения при температуре 4 °C, являются одними из ключевых, определяющих товарные качества картофеля и пригодность его к дальнейшей переработке. При этом селекция новых сортов картофеля с заданными признаками затруднена благодаря особенностям его геномной организации: культивируемые сорта являются автотетраплоидами (2n = 4x = 48) с высокой степенью гетерозиготности, также в геноме присутствуют многочисленные дупликации и вариации числа копий генов. Ранее 77 генов, участвующих в метаболизме углеводов в растении картофеля, были описаны и локализованы на референсной геномной последовательности *Solanum tuberosum* (Van Harsselaar et al., 2017). Доступность нуклеотидных последовательностей различных сортов картофеля делает возможной разработку новых молекулярно-генетических маркеров для генотипирования гибридного и сортового материала. Целью работы является изучение аллельного полиморфизма генов углеводного обмена у сортов картофеля отечественной селекции; а также разработка CAPS-маркеров (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences) для выявления вариантов, связанных с повышенным либо пониженным содержанием крахмала и редуцирующих сахаров в клубнях картофеля.

Материалы и методы: Растения 20 сортов картофеля отечественной селекции из коллекции ГенАгро СибНИИРС выращивали в полевых условиях в течение 2 вегетационных периодов. Проведен анализ содержания крахмала и сухого вещества в свежих клубнях, а также редуцирующих сахаров в тканях клубней после длительного (180 дней) хранения при температуре +4 °C. Для изучения аллельного полиморфизма генов углеводного обмена на первом этапе работы проведен *in silico* анализ последовательностей 9 генов (кодирующих крахмалсинтазы, АДФ-глюкозо-пирофосфорилазы, сахарозосинтазу, бета-амилазу, крахмал-фосфорилазу) из геномов 15 отечественных сортов картофеля, секвенированных методом *Illumina в* рамках работ Курчатовского геномного центра. Множественное выравнивание последовательностей проводилось с использованием программы MEGAX. К консервативным областям экзонов с помощью программы Primer3 подобраны специфичные праймеры, ограничивающие полиморфный участок внутри ампликона, содержащий SNP либо индели. Рестриктазы, позволяющие выявить найденные полиморфизмы с помощью молекулярно-генетических методов, подобраны программой NEBuilder. Разработанные таким образом CAPS-маркеры были использованы для анализа 64 образцов ДНК, выделенных из сортов коллекции ГенАгро, либо полученных от ФИЦ Биотехнологии РАН.

Результаты: По результатам биохимического анализа сорта картофеля были разбиты на группы с высоким (>16%), средним (14–16%), и низким (<14%) содержанием крахмала в клубнях. Разработаны 27 пар ПЦР-праймеров к 9 генам углеводного обмена; подобраны рестриктазы, выявляющие выявлять 67 различных SNP/инделей внутри ампликонов. Протестированы 16 CAPS-маркеров на 64 сортах картофеля, их них 14 маркеров показали полиморфный спектр фрагментов рестрикции между образцами. 4 CAPS-маркера, разработанные для 4 различных генов, показали спектры фрагментов, различающиеся для сортов с высоким и низким содержанием крахмала в клубнях.

Выводы: Таким образом, CAPS-маркеры, разработанные на основе геномных *Illumina* последовательностей 15 отечественных сортов картофеля, позволяют выявлять полиморфные SNP/индели у анализируемой выборки образцов. Кроме того, 4 CAPS-маркера из 16 протестированных позволяют выявлять аллельные варианты генов (содержащие соответствующие SNP), предположительно связанные с повышенным содержания крахмала в клубнях.

Финансирование: Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, № 25-26-20116, https://rscf.ru/project/25-26-20116/.

doi 10.18699/PlantGen-2025-189

Регуляция экспрессии генов капусты *Brassica oleracea* TAL-эффекторами при заражении бактерией *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*

К.К. Серёгина[1]*, Ю.А. Антакова[1, 2], А.Д. Антипов[1], О.Л. Ражина[1], М.В. Лебедева[1], В.В. Таранов[1]
[1] ФГБНУ *Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия*
[2] *ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет», Москва, Россия*
* *k.k.seregina@gmail.com*

Цель: Капуста *Brassica oleracea* часто подвергается такому заболеванию, как сосудистый бактериоз, вызываемый бактерией *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, что приводит к большим потерям урожая. Известно, что эффекторы, подобные активаторам транскрипции (TALE), *X. campestris* попадают внутрь клеток растений и скорее всего способствуют увеличению восприимчивости патогена, усиливая транскрипцию определенных генов хозяина. На данный момент знания о генах, отвечающих за восприимчивость капустой *X. campestris*, носят фрагментарный характер, поэтому изучение регуляции экспрессии генов-мишеней TAL-эффекторов в геноме капусты *B. oleracea*, а также их редактирование путем внесения нокаутных мутаций может привести к повышению ее устойчивости к сосудистому бактериозу.
Материалы и методы: Изоляты бактерий *X. campestris* pv. *campestris*, собранные с растений капусты с признаками сосудистого бактериоза, были любезно предоставлены А.Н. Игнатовым и Ф.С. Джалиловым. Далее из полученных культур была выделена ДНК. С помощью ПЦР с использованием праймеров, специфичных к консервативным участкам нуклеотидных последовательностей генов TAL-эффекторов из базы NCBI, было подтверждено наличие у изолятов XY1-1, XY1-2, XY2-1, XY2-2, B-32, 277NZ, DB-3, генов TAL-эффекторов, а также проведено секвенирование геномов таких бактерий. Аннотирование генов TAL-эффекторов в геномах избранных изолятов осуществлялось с помощью программы AnnoTALE. Поиск генов-мишеней TAL-эффекторов проводили с помощью алгоритмов PrediTALE, входящих в программу AnnoTALE, в геноме дигаплоидной линии TO1000 *B. oleracea* var. *oleracea* (NCBI RefSeq assembly: GCF_000695525.1). Изменения экспрессии генов-мишеней *B. oleracea* TAL-эффекторами при заражении *X. campestris* pv. *campestris* детектировались с использованием метода ПЦР с обратной транскрипцией. Изначально проводилась инокуляция листьев четырех различных генотипов капусты (TO1000, Dh, Парус, Подарок) с изолятами бактерий *X. campestris pv. campestris*, содержащими гены TAL-эффекторов. В качестве контроля использовались растения, зараженные изолятами, не имеющими TAL-эффекторов в геноме. Спустя сутки, двое суток и трое суток из листьев выделялась РНК, и далее проводились измерения экспрессии генов-мишеней при помощи ОТ-ПЦР.
Результаты: Среди избранных изолятов было найдено и полностью отсеквенировано 13 генов TAL-эффекторов. Наиболее распространенным оказался TAL-эффектор TalEN6, встречающийся в 5 исследованных изолятах (XY1-1, XY1-2, XY2-1, XY2-2, происходящих из Украины, и DB-3 собранного в Московской области). Все они содержат ген с одинаковым числом повторов и одинаковыми RVD, отличающиеся только однонуклеотидными заменами. Более того, такое сочетание RVD описывалось в литературе и ранее. Зная последовательности вариабельных остатков в положениях 12, 13 (RVD) в данных повторах, можно предсказать последовательность нуклеотидов, с которым свяжется конкретный TAL-эффектор и таким образом выявить гены-мишени. Для TAL-эффектора TalEN6 было предсказано 122470 вероятных сайтов узнавания в геноме *B. oleracea*, среди них было отобрано 9 мишеней с высоким уровнем значимости и местоположением, близким к предполагаемой точки старта транскрипции в 5’-направлении от кодирующей области. Для TAL-эффектора TalAJ3 было предсказано 100210 вероятных сайтов узнавания, из них 5 мишеней находились поблизости от предполагаемой точки старта транскрипции и имели высокий уровень значимости. Для остальных TAL-эффекторов не было найдено значимых сайтов узнавания. Измерение уровня экспрессии избранных генов-мишеней показало, что для генов *WEB*, *dolichyl-diphosphooligosaccharide–protein glycosyltransferase*, *ERF121* наблюдается индукция экспрессии в десятки раз при заражении изолятом XY1-1, содержащим гены TAL-эффекторов, по сравнению с контролем.
Выводы: В данном исследовании было оценено изменение экспрессия избранных генов-мишеней после инокуляции изолятами бактерии *X. campestris* pv. *campestris*. Изолят XY1-1 содержал два TAL- эффектора TalEN6 и TalAJ3, контрольные изоляты не содержали генов TAL- эффекторов.
Финансирование: Исследование поддержано Министерством науки и высшего образования Российской Федерации, проект № 075-15-2023-582.

doi 10.18699/PlantGen-2025-190

Геномное разнообразие фитопатогена льна *Colletotrichum lini*

Е.А. Сигова[1]*, Е.М. Дворянинова[1], Т.А. Рожмина[2], Л.П. Кудрявцева[2], А.М. Каплун[1], А.А. Архипов[1], Е.Н. Пушкова[1], Н.В. Мельникова[1], А.А. Дмитриев[1]

[1] *Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, Россия*

[2] *Федеральный научный центр лубяных культур, Торжок, Россия*

* *sigova.ea@phystech.edu*

Цель: Изучение геномного разнообразия на уровне хромосомных сборок для 20 штаммов *Colletotrichum lini* – возбудителя антракноза – одного из наиболее распространенных заболеваний льна, которое наносит значительный ущерб льноводству.

Материалы и методы: Геномы 20 штаммов *C. lini* различной вирулентности секвенированы на платформах Oxford Nanopore Technologies (ONT, ячейки R9.4.1 и R10.4.1) и Illumina (NovaSeq 6000, 150+150 н.). Геномные сборки штаммов *C. lini* из данных ONT R9.4.1 получены с использованием Canu и отполированы согласно разработанной нами ранее схеме: Racon (чтения ONT, 2 итерации) – Medaka (чтения ONT) – Polca (чтения Illumina). Сборки штаммов *C. lini* из данных ONT R10.4.1 получены Hifiasm из предварительно откорректированных Dorado чтений с длиной 10–50 тыс. н. и некорректированных чтений длиной более 50 тыс. н. в качестве ультрадлинных и отполированы чтениями Illumina приложением Pilon. В полученных сборках выделены полные митохондриальные геномы, отфильтрованы мелкие повторяющиеся контиги, оставшиеся контиги отсортированы по уменьшению длины и доведены до уровня хромосом. Качество сборок оценивали приложениями BUSCO (glomerellales_odb10) и QUAST. Теломерные повторы обнаруживали с использованием Tidk. Для множественных выравниваний геномов штаммов *C. lini* друг на друга использовали LAST.

Результаты: Сборки изученных штаммов *C. lini* обладали полнотой по BUSCO более 97% и состояли из 12–14 хромосом. Сборки содержали 10 основных (core) хромосом и 2–4 дополнительных (accessory) хромосомы, которые характерны для грибных фитопатогенов. Геномы 8 штаммов (6 высоковирулентных, 2 средневирулентных) содержали только 2 дополнительных хромосомы, геномы 11 штаммов (9 высоковирулентных, 1 средневирулентный, 1 слабовирулентный) имели 3 дополнительных хромосомы, геном 1 высоковирулентного штамма содержал 4 дополнительных хромосомы. В результате полногеномного выравнивания сборок штаммов *C. lini* друг на друга выявлены значительные перестройки на хромосоме 2 и небольшие перестройки на концах хромосомы 10 у одного из средневирулентных штаммов, а также значительная перестройка на хромосоме 6 у еще одного средневирулентного штамма.

Выводы: В результате работы получены сборки хромосомного уровня для 20 штаммов *C. lini* различной вирулентности и проведен их сравнительный анализ на полногеномном уровне, который дал представление о геномном разнообразии этого фитопатогена льна. Дальнейшая аннотация собранных геномов с использованием транскриптомных данных и детальное изучение дополнительных хромосом в контексте сравнительного анализа генов, а также изучение обнаруженных перестроек позволят установить гены, которые детерминируют степень вирулентности штаммов.

Финансирование: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-16-00169, https://rscf.ru/project/22-16-00169/.

doi 10.18699/PlantGen-2025-191

Ауксин и цитокинин регулируют тканеспецифическую экспрессию гена *MAKR6* у *Arabidopsis thaliana* L.

А.Д. Сидоренко[1, 2]*, Д.Д. Новикова[3], В.В. Миронова[4], Е.В. Землянская[1, 2]
[1] *Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия*
[2] *Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия*
[3] *Университет Лозанны, Лозанна, Швейцария*
[4] *Институт биологических и экологических наук им. Радбауда, Неймеген, Нидерланды*
* *a.sidorenko1@g.nsu.ru*

Цель: Одним из основополагающих вопросов генетики является исследование механизмов, регулирующих активность генов в пространстве, так называемый паттерн экспрессии генов, и обеспечивающих таким образом специфичность их работы в строго определенных тканях. Семейство мембран-ассоциированных регуляторов киназ (MAKR) включает в себя семь белков, регулирующих различные аспекты развития растений; большинство представителей семейства демонстрируют тканеспецифический паттерн экспрессии [1]. Среди белков MAKR малоизученным остается MAKR6. Наши предыдущие исследования показали, что ген *MAKR6* характеризуется тканеспецифической экспрессией и, вероятно, участвует в регуляции процессов развития [2]. Целью данной работы является изучение влияния фитогормонов ауксина и цитокинина (ключевых регуляторов развития корня) на активность гена *MAKR6* в корне *Arabidopsis thaliana* L.

Материалы и методы: Для оценки уровня экспрессии *MAKR6* в ответ на обработку гормонами использовали количественную ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР). Потенциальные регуляторы транскрипции *MAKR6* были предсказаны на основе анализа полногеномных профилей связывания транскрипционных факторов, полученных методом DAP-seq, доступных в открытых источниках [3]. Для исследования активности промотора *MAKR6* в тканях растения были получены репортерные линии *pMAKR6:nls3GFP* и описан паттерн их экспрессии у *A. thaliana* дикого типа, а также на фоне мутаций генов некоторых потенциальных регуляторов транскрипции *MAKR6.* Распределение сигнала GFP в тканях изучали с помощью эпифлуоресцентной и конфокальной микроскопии.

Результаты: Выявлено, что экспрессия *MAKR6* в корне чувствительна к ауксину и цитокинину. Транскрипция гена усиливается уже через 30 минут после обработки ауксином. Активация гена в ответ на обработку цитокинином наблюдается через 24 часа и предположительно является результатом вторичного ответа на фитогормон. Показано, что блокирование активного транспорта ауксина путем обработки нафтил-фталаминовой кислотой существенно изменяет паттерн экспрессии *MAKR6* в корне. В промоторной области *MAKR6* обнаружены сайты связывания транскрипционных факторов семейства ARF, регулирующих первичный транскрипционный ответ генов на ауксин, и нескольких цитокинин-чувствительных транскрипционных факторов. Показано, что на фоне мутации *mp/arf5* чувствительность *MAKR6* к ауксину сохраняется, что предполагает участие других транскрипционных факторов семейства ARF в регуляции раннего ответа гена *MAKR6* на ауксин.

Выводы: Полученные данные демонстрируют, что тканеспецифическая экспрессия *MAKR6* в корне *A. thaliana* находится под контролем ауксина и цитокинина – ключевых регуляторов развития корня.

Список литературы

1 Novikova D.D., Korosteleva A.L., Mironova V., Jaillais Y. Meet your MAKR: the membrane-associated kinase regulator protein family in the regulation of plant development. *FEBS J.* 2022;289(20):6172-6186
2 Sidorenko A.D., Novikova D.D., Mironova V., Zemlyanskaya E. Understanding the role of MAKR6 in *Arabidopsis thaliana* L. root development. In: Bioinformatics of Genome Regulation and Structure/Systems Biology (BGRS/SB-2022). Novosibirsk, 2022;662
3 O'Malley R.C., Huang S.S.C., Song L., Lewsey M.G., Bartlett A., Nery J.R., Ecker J.R. Cistrome and Epicistrome Features Shape the Regulatory DNA Landscape. *Cell*. 2016;165(5):1280-1292

doi 10.18699/PlantGen-2025-192

Исследование коллекции масличного льна на наличие генов низкой линоленовости

А.Д. Симагин*, А.С. Симагина, Е.А. Вертикова, Е.К. Барнашова
Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва, Россия
** alexander.d.simagin@yandex.ru*

Цель: Установление наличия генов, ассоциированных с низкой линоленовостью масла льна.

Биосинтез альфа линоленовой кислоты досконально изучен. Известно, что альфа линоленовая кислота накапливается при окислении линолевой кислоты в присутствии катализирующих десатураз-3. Гены Fad3a, Fad3b, Fad3c отвечают за выработку этих десатураз. Нуклеотидная последовательность генов Lufad3a и lufad3b расшифрована, что дает возможность исследовать образцы льна с использованием генетических маркеров. Низкое содержание альфа линоленовой кислоты в масле у льна возможно только при наличии двух генов Lufad3a и lufad3b.

Материалы и методы: Для исследования коллекции льна масличного были подобраны генетические маркеры из статьи М. В. Богдановой. Исследование проводили в лаборатории кафедры генетики, селекции и семеноводства ФГБОУ ВО РГАУ МСХА им. К.А. Тимирязева. В исследовании были задействованы 16 сортов льна масличного. Выделение ДНК осуществляли на приборе Allsheng 32s из 2 недельных проростков льна. Амплификацию проводили с реактивами от компании Евроген (x5 screen mix) в ПЦР амплификаторе Bioer. Электрофорез проводили с использованием красителя Gel Loading Dye, Blue.

Результаты: Из всех сортов ген Lufad3a был обнаружен у 13 сортов, в то время как ген lufad3b был обнаружен только у 4 сортов, при этом только у 3 сортов обнаружено наличие сразу 2 генов lufad3a и lufad3b.

Выводы: Из всех исследуемых сортов только 3 образца обладают низким процентным содержанием линоленовой кислоты в масле, так как только у них было выявлено наличие сразу двух генов десатураз-3 Lufad3a и Lufad3b.

doi 10.18699/PlantGen-2025-193

Поиск ДНК-маркеров к признаку содержание белка у сои: сравнительное исследование группы сортов

М.Г. Синявская[1]*, А.С. Томашова[1], В.В. Александрович[1], О.П. Шатарнов[1], О.Г. Давыденко[2]
[1] *Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь*
[2] *ООО «Соя-Север», Минская область, п. Колодищи, Республика Беларусь*
* *m.siniauskaya @igc.by*

Содержание белка в зерне у сои – один из важнейших параметров, характеризующий ценность генотипа (образца). Этот признак в значительной степени зависит от агрофона выращивания, но также имеется и генетическая основа для его развития, в той или иной степени. Прогрессу в исследованиях по поиску и созданию относительно высокобелковых урожайных сортов сои, как важнейшей сельскохозяйственной культуры несомненно будет способствовать и расширение представлений об изменчивости генов метаболизма азота у сои. Это гены утилизации нитрата – нитритредуктазы, нитратредуктазы, NO-синтаза взаимодействующего белка; гены, связанные с ассимиляцией аммонийного азота – глутаматдегидрогеназы, глутаминсинтетазы, глутаматсинтазы; гены систем транспорта нитрата и аммония. Последовательности вышеописанных генов метаболизма азота у сои изучены слабо.

Цель: Исследовать последовательности генов, области генома, связанные с ассимиляцией азота (белка) у сои.

Материалы и методы: Изучены 30 сортов сои культурной (*Glycine max*) и 1 дикорастущий образец (*G. soja*), отобранные из коллекции лаборатории нехромосомной наследственности Института генетики и цитологии НАН Беларуси. Данные образцы различались по признаку «содержание белка», к каждому сорту прилагалось описание его агробиологических характеристик.

Проростки 7–10 дней, полевой материал сои были исследованы стандартными молекулярно-генетическими методами. Тотальная ДНК выделялась с набором АртДНК (ООО «АртБиотех»), дизайн праймеров к генам, связанным с азотным обменом у сои проведен с помощью primer blast и др. ПЦР по разработанным праймерным комбинациям была проведена с готовым премиксом ArtMix (ООО «АртБиотех»), проверка качества ампликонов, последующая очистка ампликонов и подготовка их к секвенированию проводилась по стандартным методикам. Секвенирование по Сэнгеру проводилось с набором Nimagen v3.1 (по протоколу производителя) на приборе Abi3500 (Applied Biosystems), анализ последовательностей после секвенирования – в программах ChromasPro, Benchling.

Результаты: Изучены кодирующие последовательности трех генов, которые имеют отношение к утилизации азота растением сои. Разработано 19 праймерных комбинаций для трех генов азотного обмена у высших растений (сои) – нитритредуктазы, нитратредуктазы и NO-синтаза ассоциированного белка. Отработаны условия полимеразной цепной реакции для 18 локусов, проведены секвенирование по Сэнгеру и биоинформатический анализ результатов секвенирования. Выявлены множественные отличия в последовательностях генов нитрит- и нитратредуктазы у образцов культурной сои и образца *Glycine soja*.

В 3’фланкирующей области гена нитритредуктазы у ряда сортов обнаружены динуклеотидная трансверсия AA-TT по сравнению с референсным сортом Williams 82, выясняется функциональная значимость изменений. Ведется дальнейшая работа по генам метаболизма азота у сои, разработаны и тестируются на вышеописанной выборке ДНК маркеры к генам глутаминсинтетазы, глутаматсинтазы и др., а также к генам транспортеров нитрата и аммония.

Выводы: Обнаружены множественные отличия в последовательности ДНК культурной и дикорастущей сои по генам нитрит- и нитратредуктазы. У ряда сортов сои культурной в 3’фланкирующей области гена нитритредуктазы обнаружена динуклеотидная замена, функциональная значимость которой не ясна.

Финансирование: Исследование выполнено при финансовой поддержке по ГПНИ «Биотехнологии 2» 2021–2025 гг., подпрограмма 2 «Геномика, эпигеномика, биоинформатика», задание 2.10.7.

doi 10.18699/PlantGen-2025-194

Изучение транскриптомных профилей контрастных линий *Medicago truncatula* в ходе соматического эмбриогенеза

К.В. Смирнов[1, 2]*, В.Е. Творогова[2], Э.А. Поценковская[3], И.А. Тихонович[1], Л.А. Лутова[2]
[1] *Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия*
[2] *Санкт-Петербургский Государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*
[3] *Научно-технологический университет «Сириус», федеральная территория «Сириус», Краснодарский край, Россия*
* *kirill.vad.smirnov@gmail.com*

Цель: На настоящий момент трансформация остается невозможной для многих видов растений и для представителей семейства Fabaceae в том числе. Одной из причин является низкая способность к регенерации у клеток, несущих чужеродную ДНК. Существует несколько подходов к решению данной проблемы, в том числе дополнение генетической конструкции последовательностью гена-индуктора соматического эмбриогенеза, благодаря чему трансформированные клетки с большей вероятностью будут формировать соматические эмбрионы, из которых в дальнейшем можно получить полностью трансгенное растение. Наша работа посвящена поиску таких генов-индукторов с помощью изучения линий *Medicago truncatula*, контрастных по способности к соматическому эмбриогенезу: низкоэмбриогенной линии A17 и полученной от нее эмбриогенной линии 2HA, а также линии 108-1 и полученной от нее высокоэмбриогенной R108. Цель настоящего исследования – осуществить кластерный транскриптомный анализ каллусов двух пар линий люцерны слабоусеченной (*Medicago truncatula*), контрастных по способности к соматическому эмбриогенезу
Материалы и методы: В работе использовались растения *M. truncatula* линий A17, 2HA, 108-1, R108; было проведено секвенирование РНК каллусов, полученных из растений этих линий. Обработка транскриптомных данных и их анализ проводились с помощью программ FastQC, Trimmomatic, HISAT2 и Stringtie, а также пакетов среды R DESeq и WGCNA.
Результаты: В рамках настоящей работы экспланты, полученные от растений линий A17, 2HA, 108-1, R108, культивировали на среде для индукции каллусообразования, а затем, посредством изменения соотношения добавляемых в среду гормонов, индуцировали соматический эмбриогенез в полученных каллусах. Следует отметить, что условия культивации различались для пары 108-1/R108 и пары A17/2HA. Вследствие этого, а также, вероятно, вследствие особенностей генотипов, можно было наблюдать отличия в протекании соматического эмбриогенеза: на каллусах высокоэмбриогенной линии R108 формировалось значительно больше соматических эмбрионов, чем на каллусах линии 2HA. Кроме того, каллусы низкоэмбриогенной линии 108-1 на поздних стадиях культивации погибали, в то время как каллусы линии A17 сохраняли жизнеспособность при продолжительном культивировании. Также был проведен кластерный транскриптомный анализ РНК, выделенной из каллусов, отобранных на разных стадиях культивирования. В результате были выявлены гены транскрипционных факторов с паттернами экспрессии, контрастными у пар 108-1/R108 и A17/2HA, а также коррелирующими с протеканием соматического эмбриогенеза в развивающихся каллусах. Таким образом, были получены данные о генах-кандидатах на роль индукторов соматического эмбриогенеза, а также список потенциальных репрессоров регенерации, редактирование которых может также повысить способность к соматическому эмбриогенезу. Однако полученные на настоящий момент биоинформатическими методами данные нуждаются в дальнейшей верификации. Уже получены конструкции для сверхэкспрессии некоторых генов-кандидатов. Дальнейшие исследования позволят оценить их перспективность в качестве морфогенетических регуляторов как для *M. truncatula*, так и для других представителей семейства Fabaceae, в том числе сельскохозяйственно значимых, например, таких как *Pisum sativum* и *Lens culinaris*, трансформация которых на настоящий момент затруднена.
Выводы: В рамках выполнения настоящей работы был получен и проанализирован транскриптом двух пар контрастных по соматическому эмбриогенезу линий *M. truncatula* в процессе каллусообразования и соматического эмбриогенеза, проведен сравнительный анализ их экспрессионных профилей, получен список потенциальных морфогенетических регуляторов для дальнейших исследований.
Финансирование: Работа поддержана грантом РНФ № 25-26-00218.

doi 10.18699/PlantGen-2025-195

Поиск и изучение роли микроРНК в подавлении иммунного ответа у бобовых растений при развитии эффективного внутриклеточного симбиоза *Pisum sativum* L.

Н.В. Смирнова*, А.В. Долгих, Е.С. Канцурова, Е.А. Долгих
Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия
** nv.smirnova@arriam.ru*

Цель: Способность к развитию внутриклеточных симбиозов у растений в значительной степени обусловлена способностью микросимбионтов подавлять защитные системы хозяина и преодолевать их устойчивость к развитию внутриклеточной инфекции. Однако механизмы регуляции иммунного ответа растений микросимбионтами остаются малоизученными. Исследование данной проблемы является актуальным и имеет непосредственное отношение к регуляции эффективности и специфичности внутриклеточных симбиозов (прежде всего, бобово-ризобиального симбиоза). Известно, что в подавлении иммунного ответа со стороны растений могут участвовать эффекторы микроорганизмов, которые непосредственно доставляются в клетки хозяина и могут узнаваться NLR-рецепторами. Действие эффекторов преимущественно исследовано у патогенов, но остается малоисследованным у симбиотических микроорганизмов. Представляло интерес выяснить, могут ли ризобии выделять эффекторы, которые избегают активации NLR-рецепторов, или происходит снижение уровня этих рецепторов у хозяина. Поскольку накапливаются данные о том, что молекулы микроРНК могут контролировать содержание NLR-рецепторов, мы предположили, что ризобии могут влиять на изменение уровня микроРНК и тем самым контролировать содержание NLR-рецепторов и восприимчивость растений к ризобиальной инфекции. Однако, как осуществляется такая регуляция с помощью микроРНК, остается неизвестным. Анализ литературных данных показывает, что растительные микроРНК (miRNA) играют важную роль в реакциях на биотический и абиотический стресс. Они могут регулировать устойчивость растений к патогенам, но активируются и при симбиозах. Показано, что три типа растительных miRNA (miR2118, miR1507, miR2109) могут воздействовать на гены *NLR* у *Medicago truncatula* и регулировать восприимчивость к заражению. Однако какие типы микроРНК могут работать у других бобовых, в частности у гороха, остается малоисследованным.

Материалы и методы: С использованием биоинформатических подходов в геноме гороха нами был выявлен ген miR1507, которая потенциально может влиять на уровень экспрессии генов цитоплазматических NLR-рецепторов. Мы получили генетические конструкции для сверхэкспрессии этой микроРНК под конститутивным промотором с целью дальнейшей оценки ее влияния на модуляцию иммунного ответа и установление симбиоза у гороха. Также нами были получены генетические конструкции для сверхэкспрессии гена miR1507 гороха в ризобиях в векторе pHC60 под высокоэффективным *lac* промотором для оценки влияния экзогенной микроРНК на развитие симбиоза с горохом.

Результаты: Нами проведен эксперимент по инокуляции гороха посевного эффективными (RCAM 1026, 1064 3841) и неэффективными (Vst36-3, A56) штаммами *Rhizobium leguminosarum* на ранних стадиях – 24 ч после инокуляции для оценки динамики изменения экспрессии ряда генов *NLR*, а также в сформированных клубеньках. Установлено, что при эффективном симбиозе уровень экспрессии двух генов *NLR* (*RGA3-1* и *RGA3-2*) существенно снижается. Биоинформатический анализ показал, что два гена *RGA3-1* и *RGA3-2* являются потенциальными мишенями микроРНК1507. Для оценки влияния новой микроРНК на симбиоз нами проведена трансформация ризобий RCAM 1026 генетической конструкцией для повышенной экспрессии гена miR1507 гороха в ризобиях в векторе pHC60 под высокоэффективным lac промотором. Было показано, что инокуляция растений гороха таким штаммом приводила к существенному увеличению таких показателей, как количество клубеньков, масса растения и масса корня по сравнению с контрольными растениями, инокулированными штаммом RCAM 1026 mCherry без конструкции с miR1507. Это указывает на важную роль микроРНК1507 в регуляции эффективности симбиоза и открывает новые возможности для ее увеличения с помощью биотехнологических подходов.

Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ № 24-16-00180.

doi 10.18699/PlantGen-2025-196

Предсказание класса длинных некодирующих РНК по расположению в геноме методами глубокого машинного обучения

В.С. Соколов[1]*, А.Ю. Пронозин[2], Д.А. Афонников[1, 2]
[1] *Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия*
[2] *Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия*
* *v.sokolov2@g.nsu.ru*

Цель: Длинные некодирующие РНК (днРНК) – это класс РНК длиной более 200 нуклеотидов, не кодирующих белки. Экспериментальные исследования показывают вовлеченность днРНК в регуляцию экспрессии генов, формирование макромолекулярных комплексов. Известно, что у растений днРНК принимают участие в регуляции устойчивости к различным видам стресса, оказывают влияние на устойчивость к гипоксии, а также принимают участие в развитие плодов, корней и листьев. Существует три класса днРНК по расположению в структуре генома: антисмысловые, межгенные и интронные. От класса днРНК зависят многие ее функции: как она взаимодействует с белок кодирующими генами, как встраивается и каким образом производит регуляцию транскрипции. Например, антисмысловые днРНК могут взаимодействовать с комплементарной молекулой мРНК и препятствовать биосинтезу белка. На сегодняшний день разработано достаточно программ предсказания днРНК. Данные программы применяют различные методы, как самые простые основанные на измерении кодирующего потенциала, так и основанные на машинном обучении (ML). Однако ни одна из существующих программ не предусматривает классификацию днРНК по расположению в геноме. Таким образом, целью работы является разработка и оценка эффективности методов на основе глубокого обучения для предсказания и классификации длинных днРНК.
Материалы и методы: Использованы наборы последовательностей днРНК растений (*Arabidopsis thaliana*, *Zea mays* и др.), загруженных из публичных баз данных. Для классификации применены методы глубокого обучения, такие как предварительно обученная на наборе данных днРНК модель ERNIE BERT с несколькими модификациями, сверточные нейронные сети, а также классические алгоритмы машинного обучения. Для полученных моделей классификации проведена оценка точности для сравнения методов и их модификаций.
Результаты: Для исследуемого набора днРНК получены значения точности предсказания и классификации для каждого алгоритма и модификаций. Модель ERNIE BERT показала следующие результаты: F1-мера для предсказания составила 0.88 и F1-мера для классификации – 0.67. Продемонстрирована сравнительная эффективность различных подходов в задаче классификации днРНК по местоположению в геноме.
Выводы: Использование методов глубокого обучения представляет собой перспективный подход для классификации днРНК по их геномному расположению. Полученные результаты позволяют расширить знания о характеристиках различных типов днРНК и способствуют развитию методов аннотации геномов.
Финансирование: Работа выполнена при поддержке бюджетного проекта № FWNR-2022-0020.

doi 10.18699/PlantGen-2025-197

Исследование изменчивости хлоропластного генома секалотритикум методом NGS

А.В. Соколюк*, Н.И. Дубовец
Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь
** a.sokolyuk@igc.by*

С открытием универсальности феномена геномных дупликаций в эволюции живых систем существенно возрос интерес к исследованию аллополиплоидии, сыгравшей решающую роль в становлении большинства таксонов высших растений. В результате многочисленных исследований, выполненных с применением молекулярных технологий, было установлено, что генезис аллополиплоидных форм сопровождается кардинальными преобразованиями и модификациями ядерного генома (Soltis, Soltis, 2000; Wendel, 2000; Adams, Wendel, 2005; Feldman, Levy, 2005). Между тем образование аллополиплоидных форм всегда сопряжено с нахождением одного или более ядерных геномов в чужеродной цитоплазме, из чего следует, что структурным модификациям в ходе становления полиплоида может подвергаться не только ядерный геном, но и пластом. Запланированное нами сопоставление первичной структуры хлоропластной ДНК у синтезированных ржано-пшеничных гибридов и доноров их цитоплазмы предоставляет возможность прояснить этот аспект, дополнив тем самым наши знания о генезисе аллополиплоидных форм злаков. В данном сообщении приводятся результаты первого этапа исследований, посвященного выявлению изменчивости хлоропластного генома линий секалотритикум.

Цель: Провести полногеномное секвенирование и сборку хлоропластных ДНК линий секалотритикум и путем сопоставления полученных данных оценить уровень межлинейной изменчивости пластома у данного типа гибридов пшеницы с рожью.

Материалы и методы: Материалом для исследований послужили 12 линий секалотритикум, полученных в результате гибридизации тетраплоидной ржи (RRRR, 2n = 4x = 28) с гексаплоидными тритикале (AABBRR, 2n = 6x = 42) и однократного беккроссирования полученных ржано-тритикальных гибридов F1 (RRABR, 5x = 35) на тритикале (Гордей И.А. и др., 2011). Для предварительного типирования цитоплазмы секалотритикум по видоспецифическим локусам применялся ПЦР-ПДРФ анализ. Выделение хлоропластов осуществляли методом дифференциального центрифугирования (Jansen R.K.). Хлоропластную ДНК выделяли методом CTAB. NGS проводили с использованием ISeq Illumina. Биоинформатическая обработка данных осуществлялась с использованием программ: FastQC, Trimmomatic-0.39, Spades 3.13.1, Bowtie2-2.5.1, combinator-FQ-v1.6a.

Результаты: В ходе предварительного типирования цитоплазмы гексаплоидных ржано-пшеничных гибридов (секалотритикум) по двум видоспецифическим локусам (*ndhH*-локус хлоропластной ДНК и *18S/5S*-повтор митохондриальной ДНК) установлено, что у всех линий оба локуса соответствуют плазмотипу ржи. Исходя из этого сборку полных последовательностей хлоропластных геномов после проведенного NGS секвенирования осуществляли путем выравнивания контигов на референсный хлоропластный геном *Secale cereale* (код доступа GenBank – NC_021761.1). В ходе сопоставления пластомов линий секалотритикум с референсным хлоропластным геномом *Secale cereale* были выявлены такие изменения нуклеотидных последовательностей, как делеции и SNP. Большинство найденных полиморфизмов расположено в некодирующих областях хп-геномов, но были обнаружены изменения и в кодирующих районах. Наибольшей изменчивостью у всех 12 линий характеризуются гены рибосомальных белков, гены семейства АТФ-синтазного комплекса и гены, кодирующие синтез субъединицы НАДФ дегидрогеназы. Делеции в исследованном материале были обнаружены в 6 позициях, принадлежащих генам *matK, rpoB, rbcL, rpl22, ycf2*. Из них делеции в гене *rpl22* у трех линий и в гене *rbcL* у двух линий вызывали утрату stop-кодона, что может приводить к отсутствию остановки экспрессии этих генов и синтезу неверных аминокислот. Замены, приводящие к образованию stop-кодонов, были выявлены в гене *atpA* (у всех линий, кроме одной), и гене *rpl14* (у всех линий). При сравнении хп-геномов между собой установлено, что исследованные линии существенно различаются по уровню изменчивости хп-геномов, при этом наличие одинаковых мутаций, как правило, отмечается у линий, имеющих в родословной одного или двух одинаковых родителей.

Выводы: Для хлоропластного генома секалотритикум характерна высокая изменчивость генов рибосомальных белков и генов АТФ-синтазного и НАДФ дегидрогеназного комплексов. Уровень изменчивости хп-генома находится в обратной зависимости от степени родства линий.

Финансирование: Исследование финансируется ГПНИ «Биотехнологии-2», подпрограмма «Геномика, эпигеномика, биоинформатика» на 2021–2025 годы, задание 2.10.4.

doi 10.18699/PlantGen-2025-198

Ауксин-зависимая регуляция гомеостаза АФК в *rolA*-трансгенных клеточных культурах *Rubia cordifolia* L.

Т.О. Соломатина*, Г.Н. Веремейчик, Т.Ю. Горпенченко, В.П. Григорчук
Федеральный научный центр биоразнообразия наземных экосистем Восточной Азии Дальневосточного отделения Российской академии наук, ФГБУН ФНЦ биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, Россия
** solomatinatt@mail.ru*

Гены *rol*, изучаемые с XIX века, хорошо известны как биоинженерный инструмент для активации вторичного метаболизма растений. Согласно последним публикациям, ген *rolA* имеет две важные особенности. Во-первых, изменение продукции вторичных метаболитов у длительно культивируемых rolA-трансгенных клеточных культур *Rubia cordifolia* L. было замечено в 2014 году и описано в 2018 году. Во-вторых, сильное ауксин-зависимое антагонистическое воздействие на гомеостаз активных форм кислорода (АФК) связано с экспрессией генов *rolA* и *rolB*.

Цель: Изучение ауксин-зависимой регуляции гомеостаза АФК в *rolA* (агропинового типа) – трансгенных клеточных культурах *R. cordifolia* L. Что включает в себя поиск причины изменения вторичного метаболизма в длительно культивируемой трансгенной клеточной линии и изучение влияния индивидуальной экспрессии гена *rolA* на гомеостаз АФК.

Материалы и методы: Методами классической биотехнологии растений были получены и выращены нормальные и трансгенные клеточные культуры *R. cordifolia* L. Были применены современные стандартизованные методы молекулярной биологии: ПЦР, ПЦР-РВ, клонирование, рестрикция, электрофорез нуклеиновых кислот и другие. Пероксидазную активность нативных белков анализировали спектрофотометрически. Для анализа содержания вторичных метаболитов использовали метод ВЭЖХ-МС, который предполагает высокую точность данных о качественном и количественном составе искомых соединений. Визуализация АФК в клетках была проведена методом конфокальной микроскопии, анализ жизнеспособности – методом электронной микроскопии. Статистическую обработку данных проводили общепринятыми методами t-теста, ANOVA и post hoc анализа.

Результаты: Мы проанализировали SNPs в 5′UTR и кодирующей области гена *rolA*. Две мутации в онкогене *rolA* экспрессируются, но ни одна из этих мутаций не затрагивает известные функционально значимые аминокислоты белка RolA.

В промоторе гена *rolA* обнаружен консервативный мотив ACTTTA для ауксин-опосредованных факторов транскрипции. На двух отдельных культурах клеток была продемонстрирована сильная зависимость экспрессии гена *rolA* от экзогенных ауксинов.

Более того, экспрессия генов, участвующих в метаболизме АФК, снижалась в ответ на опосредованное ауксинами увеличение экспрессии гена *rolA*.

Таким образом, можно предположить, что длительная культивация клеточной линии может приводить к изменению ее гормонального состояния с течением времени, что может модулировать действие белка *rolA*. Можно также предположить, что антагонистическое взаимодействие между *rolA* и *rolB* предотвращает сильную r*olB*-индуцированную чувствительность к ауксину и окислительные всплески, чтобы сбалансировать состояние клеток. Недавнее исследование продемонстрировало потенциальное ауксин-зависимое противоречие между *rolA* и *rolB*, а также потенциальные мишени и физиологические последствия, такие как метаболизм АФК.

Выводы: Длительное культивирование клеточной линии может привести к изменению ее гормонального состояния с течением времени, что может модулировать действие белка RolA. Кроме того, ауксин-зависимая экспрессия гена *rolA* приводила к снижению метаболизма ROS.

Промотор гена *rolA* может регулироваться ауксином благодаря наличию мотива ACCTTTA для ауксин-зависимого белка Dof. Ауксин-зависимая индукция экспрессии гена *rolA* сопровождается снижением экспрессии генов, кодирующих ферменты системы метаболизма АФК. Можно с уверенностью предположить, что антагонистическое взаимодействие между *rolA* и *rolB* предотвращает сильную *rolB*-индуцированную чувствительность к ауксину и окислительные всплески.

Финансирование: Работа выполнена в рамках государственного задания ИАПУ ДВО РАН (тема FWFW-2024-0004) и в рамках государственного задания ФНЦ биоразнообразия наземной среды Восточной Азии ДВО РАН (тема № 0207-2024-0022).

doi 10.18699/PlantGen-2025-199

Ингибирование поли(АДФ)-рибозилирования у патогенов растений как способ защиты картофеля от фитофтороза

Н.А. Спеченкова[1]*, Н.О. Калинина[1, 2], С.А. Якунина[1], М.Э. Тальянский[1]
[1] *Государственный научный центр Российской Федерации Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ГНЦ ИБХ РАН), Москва, Россия*
[2] *НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*
** solanum@ibch.ru*

Цель: Показать функциональную роль поли(АДФ)-рибозилирования (ПАРилирования) в процессе роста мицелия оомицета *Phytophthora infestans* с использованием подходов, основанных на механизме РНК-интерференции (посттранскрипционном умолкании гена) и подавлении активности фермента поли(АДФ)-рибоза полимеразы (PARP) фармакологическим ингибитором 3-аминобензамидом (3АВ).
Материалы и методы: Сборка генома российского штамма *P. infestans* VZR ViR21a была проведена на основании данных секвенирования ДНК по технологии PacBio (CeGaT GmbH). Гомологию аминокислотных последовательностей между белками PARP *P. infestans* VZR ViR21a, *P. infestans* T30-4, *Homo sapiens* и *Arabidopsis thaliana* оценивали филогенетическим анализом (модель Уилана и Голдмана в ПО MEGA11, 1000 bootstrap replicates). Для дизайна конструкций дцРНК, для специфического подавления экспрессии генов *PARP P. infestans* VZR ViR21a, выбраны консервативные фрагменты гена *PiPARP1* длиной 662 пн., гена *PiPARP2* длиной 813 пн. и гена *PiPARG* длиной 698 пн. из полной последовательности генома VZR ViR21a. В качестве отрицательного контроля была использована дцРНК против Y вируса картофеля (PVY). ПЦР-продукты выбранных фрагментов использовали в качестве матриц для транскрипции РНК *in vitro* с использованием набора Biolabmix mRNA-20. Для формирования дуплексов РНК комплементарные одноцепочечные РНК смешивали, инкубировали при 95 °C с последующим постепенным охлаждением до комнатной температуры. Инокулят *P. infestans* готовили из 7-дневных культур, выращенных на ржаной среде в темноте при 18 °C. Часть культуры помещали в центр новой чашки Петри с каплей раствора дцРНК (150 нг/мл) либо 1 мМ раствора 3АВ. Чашки инкубировали при 18 °C в течение 10 дней, отбирали образцы мицелия, выделяли РНК. Экспрессию соответствующих генов определяли методом ОТ-ПЦР в сравнении с контрольной группой. Для оценки накопления поли(АДФ)-рибозы (ПАР) методом ИФА, выделяли тотальный белок из мицелия методом осаждения и денатурации трихлоруксусной кислотой в присутствии 2-меркаптоэтанола в холодном ацетоне. Тест на листьях проводили на картофеле сорта Гала. Листья помещались абаксиальной стороной вверх в пластиковые лотки, выстланные влажной бумагой, и были инокулированы суспензией зооспор *P. infestans*, с добавлением 3АВ или без него. Площадь поражения была измерена с помощью программного обеспечения ImageJ на 4-й и 7-й день. Статистический анализ был выполнен на десяти либо четырех независимых биологических повторах методами Tukey's HSD post hoc и ANOVA.
Результаты: Уровни экспрессии мРНК обработанной дцРНК культуры против генов *PiPARP1, PiPAR2* и *PiPARG*) были снижены примерно в 10–15 раз по сравнению с контролем (без обработки дцРНК). Однако ингибирование роста колоний после обработки дцРНК наблюдалось только в варианте с дцРНК против *PiPARP2*. Также подавление роста мицелия *P. infestans* было отмечено в культуре, обработанной 3АВ (ингибитором PARP). В совокупности эти данные предполагают, что эффект действия дцРНК против *PiPAR2* и ингибитора 3АВ может быть связан со скоростью ПАРилирования. Как подтверждение этой гипотезы, мы обнаружили значительное снижение уровня ПАР в мицелии *P. infestans*, обработанном дцРНК против *PiPARP2* или 3АВ. Возможность прямого перекрестного взаимодействия между ростом мицелия и скоростью ПАРилирования подтверждается данными, которые показывают корреляцию между уровнями накопления ПАР и ростом мицелия. В результате проверки вирулентности культуры *P. infestans* с дефицитом содержания ПАР на 4 день после заражения листья, обработанные 3АВ, не проявляли никаких характерных симптомов заражения, по сравнению с контролем, тогда как листья, инфицированные *P. infestans* в отсутствие 3АВ, демонстрировали до 60% поврежденной листовой поверхности. На 7-й день только начальные симптомы фитофтороза наблюдались на краях листьев, обработанных 3АВ, тогда как в отсутствие 3АВ 100% листьев проявляли симптомы фитофтороза.
Выводы: Мы обнаружили, что процесс ПАРилирования играет важную функциональную роль в жизненном цикле фитопатогенного оомицета *P. infestans*, являясь существенным фактором для роста мицелия и, возможно, может играть роль в регуляции других стадий его развития и способности проникать в растения-хозяева. На практическом уровне наши данные свидетельствуют о том, что нацеливание на систему поли(АДФ)-рибозилирования может представлять собой новый подход к защите растений от фитофтороза.
Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ № 23-74-30003, https://rscf.ru/project/23-74-30003/.

doi 10.18699/PlantGen-2025-200

Анализ содержания желтых пигментов в зерне образцов коллекции твердой пшеницы

А.И. Стасюк[1]*, И.Н. Леонова[1], П.Н. Мальчиков[1, 3], В.В. Пискарев[1, 2], Т.В. Чахеева[3], М.Г. Мясникова[3]
[1] *Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия*
[2] *СибНИИРС – филиал ИЦиГ СО РАН, р.п. Краснообск, Новосибирская область, Россия*
[3] *Самарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства им. Н.М. Тулайкова – филиал СамНЦ РАН, пгт. Безенчук, Россия*
** stasyuk@bionet.nsc.ru*

Цель: Зерно твердой пшеницы содержит комплекс различных желтых пигментов, основными из которых являются каротиноиды. Высокое содержание этих пигментов придает макаронным изделиям красивый золотисто-желтый цвет. Целью данного исследования был сравнительный анализ содержания желтых пигментов в зерне твердой пшеницы отечественных и иностранных сортов и селекционных линий в разных экологических условиях.

Материалы и методы: Для исследования была использована коллекция твердой пшеницы, состоящая из 37 отечественных сортов, 39 селекционных линий Самарского НИИСХ, 29 иностранных сортов и 29 современных селекционных линий из России. Растения были выращены в полевых условиях Новосибирской и Самарской областей в 2023 году. Содержание пигментов определяли путем их экстрагирования сатурированным н-бутанолом и последующим фотоколориметрированием на спектрофотометре КФК-3 М при длине волн 440–450 нм. Измерения проводили для каждого из двух растений одного образца, а затем определяли среднее значение. Результаты выражали в микрограмм-процентах (мкг%). Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ Statistica 10.0 («StatSoft, Inc.», США).

Результаты: Результаты показали, что во всех четырех группах сортов и линий, количество желтых пигментов было выше у растений, выращенных в условиях Новосибирской области. При сравнении полученных данных между группами у растений, выращенных в Самарской области, выявлено, что селекционные линии Самарского НИИСХ по содержанию пигментов достоверно превышают отечественные и зарубежные сорта, 474,3, 398,8 и 390,7 мкг% соответственно. Значимых различий не было в сравнении отечественных сортов (398,8 мкг%) с иностранными сортами (390,7 мкг%) и селекционными линиями из России (437,8 мкг%), а также между линиями Самарского НИИСХ (474,3 мкг%) и селекционными линиями из России (437,8 мкг%). При сравнении содержания пигментов у растений, выращенных в Новосибирской области, достоверные отличия были установлены между линиями Самарского НИИСХ (599,2 мкг%) в сравнении с отечественными (520,2 мкг%) и иностранными (536,0 мкг%) сортами. Между другими группами достоверных различий не наблюдалось. Двухфакторный дисперсионный анализ показал, что на количество желтых пигментов в зерне влияет как генотип, так и условия выращивания, но условия выращивания оказывают большее влияние.

Выводы: Результаты работы показали, что в 2023 году при выращивании в условиях Новосибирской области растения больше накапливали желтых пигментов в зерне, чем при выращивании в условиях Самарской области. Также показано, что в селекционных линиях Самарского НИИСХ содержание желтых пигментов было выше, чем в отечественных и иностранных сортах, несмотря на условия выращивания. Поэтому эти линии являются перспективными для использования в селекции твердой пшеницы по изучаемому признаку.

Финансирование: Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 23-16-00041, https://rscf.ru/project/23-16-00041/.

doi 10.18699/PlantGen-2025-201

Формирование панели ДНК-маркеров для молекулярно-генетического анализа коллекции сои на аллельное состояние генов, отвечающих за синтез и накопление запасных белков сои (*Glycine max* L.)

И.В. Стрембовский, П.Ю. Крупин*, М.Г. Дивашук
Всероссийский научно исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия
** pavel-krupin@yandex.ru*

Цель: Белок сои (*Glycine max* L.) находит все большее применение в пищевой и кормовой промышленности, что стимулирует селекционеров создавать новые высокобелковые гибриды и сорта сои. Из-за ограниченности семенного материала элитных растений селекционерами проводится отбор по признаку белковости на основании косвенных признаков, а точное установление содержания белка в зерне возможно только в конце селекционного процесса, когда генотип сортообразца уже изменить нельзя. Дополнительно процесс отбора ограничивается недостаточным количеством известных генетических маркеров на данный признак – количество разработанных за последние 10 лет функциональных маркеров на белковость сои заметно уступает количеству маркеров на другие признаки. Существующие же массивы маркеров на белковость сои разрознены и требуют систематизации. Поэтому для поддержания селекции сои по признаку белковости мы поставили себе задачу сформировать на основании литературных источников набор генетических маркеров и панелей, нацеленных на известные гены и гены-кандидаты синтеза и накопления запасных белков сои.
Материалы и методы: На основании анализа литературных источников была создана база данных из 147 генетических маркеров на признак белковости сои и 5 панелей для генотипирования сои, имеющих ассоциированные с накоплением белка точки (SNP). Валидацию маркеров проводили биоинформатически с использованием программ dicey и Unipro UGENE на коллекции из 57 сортов и 137 линий сои. Секвенирование коллекции проводилось короткими ридами на приборе HiSeq 2500 (Illumina). Выделение ДНК осуществлялось из кончиков листьев двухнедельных растений, предварительно измельченных в ступке с добавлением жидкого азота. Для выделения ДНК использовался модифицированный протокол Lizardi и Engelberg, адаптированный для работы с высокобелковыми культурами. Качество выделенной ДНК определяли спектрофотомерически на приборе Nano Drop One C и с помощью электрофореза в агарозном геле.
Результаты: Для повышения выхода ДНК была проведена оптимизация используемого протокола выделения ДНК. Из включенных в базу данных 147 маркеров 19 были непосредственно сцеплены с генами двух основных фракций запасных белков семени сои: 14 маркеров на гены GY1-GY7 глицинина (глобулин 11S) и 5 на гены CG1-CG4 β-конглицинина (глобулин 7S). Набор из 16 маркеров базы был нацелен на 11 генов-регуляторов накопления белка (гены транспортных белков и ферментов), а набор из 94 маркеров – сцеплен с 42 QTL (PO3-1 – PO3-4, PO5-1 – PO5-5 и т. д.), вовлеченных в накопление и синтез запасных белков сои. Отдельно было отобрано 18 маркеров на гены, продукт которых негативно влияет на качество (гены трипсина) или количество (ингибиторы синтеза, негативные регуляторы) накапливаемого белка. В базу данных маркеров также вошло 5 панелей (SoySNP618K, Axiom SoyaSNP 96, SoySNP50K iSelect BeadChip, GenoBaits Soy40K, NJAU 355K SoySNP Array) для генотипирования сои, содержащих ассоциированные с накоплением белка точки. По типу отобранных маркеров база состояла из 71 InDel, 29 SCAR, 22 SSR, 16 KASP, 6 CAPS и 3 IRAP-маркеров. На основании результатов валидации из всего массива отобран набор из 93 уникальных маркеров, нацеленных на наиболее значимые гены и QTL и потенциально пригодных для маркер-опосредованной селекции сои по признаку белковости. В дальнейшем планируется провести GWAS (Genome-wide association studies) анализ коллекции сои, выявить однонуклеотидные полиморфизмы (SNP), ассоциированные с признаком белковости, и провести аннотацию областей генома вокруг обнаруженных SNP для выявления генов-кандидатов синтеза и накопления запасных белков сои для их последующего маркирования.
Выводы: Собранная база данных из 147 генетических маркеров и 5 панелей для генотипирования сои охватывает широкий спектр маркеров на признак белковости сои. Отдельно отобранный набор из 93 уникальных маркеров признан потенциально пригодным к применению в маркер-опосредованной селекции сои.
Финансирование: Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, государственное задание FGUM-2025-0009.

doi 10.18699/PlantGen-2025-202

Пайплайн для отбора минимального паспортизующего набора однонуклеотидных полиморфизмов (SNP): опыт с соей культурной (*Glycine max* L.)

И.В. Стрембовский*, Д.С. Ульянов, М.В. Климушина, М.А. Самарина, А.С. Ермолаев, П.Ю. Крупин, Г.И. Карлов, М.Г. Дивашук

Всероссийский научно исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия
** ilya.strembovskiy@mail.ru*

Цель: В сентябре 2025 года в РФ на юридическом уровне вводится понятие генетической паспортизации растений. Методика паспортизации основана на генетическом скрининге выборки растений сорта по набору полиморфных участков ДНК и последующем определении характерной структуры сорта по этим полиморфизмам – построении генетического паспорта сорта. Скрининг проводится с использованием специальных наборов генетических маркеров. Подобные наборы должны обладать высокой дифференцирующей способностью, то есть однозначно различать сорта и при этом иметь минимальный размер, чтобы не усложнять скрининг. Для поддержки генетической паспортизации растений в РФ мы предлагаем пайплайн, адаптированный для отбора минимального паспортизующего набора однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) и апробированный на коллекции сортов и линий сои культурной (*Glycine max* L.).

Материалы и методы: Предлагаемый пайплайн состоит из ряда последовательных этапов:
1) секвенирование коллекции образцов короткими рядами Illumina, качественная оценка ридов и их тримминг,
2) картирование подготовленных массивов ридов на референсную сборку Glycine_max_v4.0 в Bowtie2,
3) выявление однонуклеотидных полиморфизмов в FreeBayes,
4) фильтрация выявленных SNP по глубине покрытия ≥10, качеству ≥30 и отсутствию мультиаллельных сайтов в bcftools и отбор пригодных для целей паспортизации полиморфизмов,
5) фильтрация набора SNP в plink2 (LD pruning, r^2<0,2),
6) максимизация информативности набора через рекурсивное исключение признаков,
7) маскирование полученного миниманизированного паспортизующего набора SNP и его искусственное расширение за счет повторного отбора,
8) визуализация результатов (ggplot2, филогенетические деревья).
Оценка эффективности предлагаемого пайплайна проводилась на коллекции из 295 сортов и линий сои культурной (*Glycine max* L.).

Результаты: Полученный на первом этапе минимизированный набор из 20 SNP позволил достоверно различить все 295 сортов и линий сои, однако для 235 сортов и линий паспорта различались только на 1 SNP набора. Поэтому для повышения устойчивости системы итоговый набор был расширен до 72 SNP, покрывающих большую часть хромосом сои за исключением хромосом 5 и 10, где полиморфизмы не соответствовали критериям фильтрации. В итоговом паспортизирующем наборе каждый сорт и линия имели уникальный SNP-профиль. Для 15 сортов при построении паспорта фиксировались гетерозиготные сигналы SNP или их отсутствие, однако это не повлияло на идентификацию благодаря избыточности набора. При этом 280 сортов и линий различались больше чем по одному SNP, что подтверждает высокую дискриминационную мощность метода.

Выводы: Тестирование предлагаемого нами пайплайна на 295 сортах и линиях сои подтвердило его применимость для разработки стандартизированных SNP-наборов генетической паспортизации растений.

Финансирование: Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, государственное задание FGUM-2023-0005.

doi 10.18699/PlantGen-2025-203

Генетический контроль черной окраски семенной кожуры чечевицы *Lens culinaris* Medik.

Г.Н. Суворова*, А.В. Иконников
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр зернобобовых и крупяных культур, Орел, Россия
** galina@vniizbk.ru*

Цель: Изучить характер наследования признака черной окраски семенной кожуры некоторых образцов чечевицы *Lens culinaris* Medik. методом гибридологического анализа.
Материалы и методы: В гибридизацию были включены следующие образцы чечевицы: Белуга (Indianhead) и к-1037 с полностью черной окраской семян; сорт Рауза с желтыми семенами; линия Р68/12 с коричневыми семенами. Скрещивания были выполнены в комбинациях Рауза × Белуга и Р68/12 × к-1073. Гибридизацию проводили в вегетационном домике. Растения F_1 выращивали в сосудах с почвой в вегетационном домике, растения F_2 – в полевых условиях. Оценку окраски семенной кожуры проводили визуально на семенах, собранных с растений F_1 и F_2.
Результаты: В комбинации Рауза × Белуга было получено 3 растения F_1, семена с которых характеризовались коричневой окраской с неравномерной черной пигментацией. Причем на каждом из растений имелись семена с окраской близкой к черной. Нами сделано предположение, что в F_1 проявляется неполное доминирование признака черной пигментации семян, а черная окраска семян сорта Белуга представляет собой максимальную степень выраженности признака. В потомстве одного из растений первого поколения данной комбинации было проанализировано 68 растений F_2, среди которых было выделено по меньшей степени 8 классов окраски семян от желтой или коричневой до черной с различной степенью пигментации. Расщепление по признаку окраски черная (6 растений) : нечерная (62 растения) укладывалось в отношение 1 : 15 ($\chi^2 = 0,77$, $P = 0,50–0,25$), что предполагает наличие двух доминантных генов контролирующих черную окраску семян в гомозиготном состоянии. В комбинации Р68/12 × к-1073 семена с двух растений F_1 также имели коричневую окраску семенной кожуры с неравномерной пигментацией, что подтвердило вывод о неполном доминировании признака в гетерозиготном состоянии. Во втором поколении данной комбинации было проанализировано 106 растений. Выделено 4 класса по окраске семенной кожуры в следующих соотношениях: черная (7 растений); коричневая с неравномерной пигментацией как у гибридов F_1 (57 растений); коричневая с равномерной пигментацией (23 растения); коричневая без пигментации как у линии Р68/12 (19 растений). Полученное расщепление соответствует дигибридному в соотношении 1 : 8 : 3 : 4 ($\chi^2 = 2,93$, $P = 0,50–0,25$). Мы полагаем, что черная окраска семенной кожуры определяется наличием доминантных аллелей двух генов, основного гена пигментации семян и второго гена, который эту пигментацию усиливает. Причем семя полностью становится черным, только если доминантные аллели присутствуют в гомозиготном состоянии. Гетерозигота хотя бы по одному из генов не может дать сплошную пигментацию и семена становятся пестрыми. Наличие доминантных аллелей основного гена пигментации в гомозиготном или гетерозиготном состоянии без доминантных аллелей гена усилителя контролирует равномерную пигментацию семян. Рецессивная гомозигота по основному гену пигментации, несмотря на присутствие доминантных аллелей гена усилителя, равно как и гомозигота по рецессивным аллелям двух генов, не дает пигментации совсем, обеспечивая коричневую окраску семенной кожуры в нашем примере.
Выводы: Признак черная окраска семенной кожуры чечевицы на примере генотипов Белуга и к-1073 контролируется доминантными аллелями двух генов отвечающих за пигментацию семян, определяющими максимальную степень выраженности признака в гомозиготном состоянии, и взаимодействующими по комплементарному типу. Основная коричневая окраска семян образцов Белуга и к-1073 маскируется черной пигментацией.

Финансирование: Исследование поддержано Министерством науки и высшего образования Российской Федерации в рамках государственного задания № FGZZ-2025-0011.

doi 10.18699/PlantGen-2025-204

Эффективность генов *Pc* к расам корончатой ржавчины (*Puccinia coronata* Corda) овса в условиях Северного Зауралья

А.К. Таутекенова, Д.И. Ерёмин
Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Северного Зауралья – филиал Тюменского научного центра Сибирского отделения Российской академии наук, Тюмень, Россия
** atautekenova@gmail.com*

Цель: оценка эффективности селекционного материала овса по устойчивости к корончатой ржавчине (*Puccinia coronata* Corda).
Материалы и методы: Эффективность возделывания овса снижается из-за болезней, что делает актуальными исследования новых генетических источников для создания устойчивых сортов. Это позволит повысить урожайность и устойчивость овса к неблагоприятным условиям. Исследования в этой области могут помочь предотвратить экономические потери и обеспечить продовольственную безопасность. Материалом для исследования послужил 31 сорт овса посевного (*Avena sativa* L.). Среди изучаемых сортов 52% составили образцы происхождением из Российской Федерации, 20% – из Канады, 13% – из Швеции, 6% – из Нидерландов, 3% – из Норвегии, Польши и Чехии. Материал для исследования предоставлен «Федеральным исследовательским центром Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова» и Тюменским научным центром СО РАН. Пораженность овса корончатой ржавчиной определяли глазомерно на флагововом и предфлаговых листьях всех растений, по шкале Петерсона с соавторами (1948). На коллекции был создан инфекционный питомник для оценки устойчивости сортов корончатой ржавчине. Норма высева семян составила 550 зерен шт./м^2. Сортами-накопителями были восприимчивые сорта овса посевного Neklan и Kasztan, которые высевали через каждые 10 рядков. Погодные условия в годы исследований отличались между собой и среднемноголетними данными. Вегетационный период 2022 года был теплым и умеренно увлажненным. Вторая половина вегетации была благоприятна для развития болезни. В 2023 году условия вегетации существенно отличались – погода была очень жаркая при отсутствии дождей. Начало вегетационного периода в 2024 году было умеренно теплым и влажным, что создало оптимальные условия для прорастания овса. Вторая половина была также благоприятна на развитие овса, наблюдались осадки выше нормы, что способствовало распространению болезней.
Результаты: В ходе исследований выделены сорта, устойчивые к корончатой ржавчине. Проанализированы как сорта отечественной селекции, так и образцы с геном устойчивости *Pc*, которые демонстрируют высокую эффективность в условиях Северного Зауралья. Источником устойчивости к корончатой ржавчине относятся: Золотой Дождь (к-7947), Ударник У-883 (к-8256), Фома (к-15451), Талисман (к-14785), Новосибирский 88 (к-14031), Нидар (к-2874), Нарымский 943 (к-11122), Astor (к-11379), Selma (к-11584), Тюменский голозерный (к-14784), Perona (к-13478). Сорта, имеющие ген устойчивости овса к корончатой ржавчине: РС 38 (к-12096), Гибрид (к-15020), Камбулинский (к-13911), РС 68 (к-14398), AC Francis (к-15302), РС 58 (к-14220), AC Medalion (к-14914).
Выводы: В ходе проведенных исследований было установлено, что оценка эффективности селекционного материала овса показала, что большинство как отечественных сортов, так и образцов с геном устойчивости *Pc*, устойчивы к корончатой ржавчине в условиях Северного Зауралья. В дальнейшем использование данных образцов в создание устойчивых сортов к корончатой ржавчине в условиях Северного Зауралья рекомендуется.
Финансирование: Работа выполнена за счет государственного задания 124022900011-6 и при поддержке Западно-Сибирского межрегионального научно-образовательного центра мирового уровня.

doi 10.18699/PlantGen-2025-205

Особенности укоренения микропобегов различных генотипов дуба черешчатого в культуре *in vitro* после длительного культивирования на среде для мультипликации

О.О. Тимина[1]*, О.Ю. Тимин[2], О.В. Плугарь[3]
[1] *Приднестровский государственный университет им. Шевченко, Тирасполь, Приднестровье, Республика Молдова*
[2] *Государственное унитарное предприятие научно-исследовательский институт экологии, Бендеры, Приднестровье, Республика Молдова*
[3] *Тираспольский аграрно-технический колледж им. М.В. Фрунзе, Тирасполь, Приднестровье, Республика Молдова*
* *otimina@mail.ru*

Цель: Дуб черешчатый (*Quercus robur* L.) является основной лесообразующей породой Приднестровья, площадь насаждений которого в республике составляет 6,1 тыс. га (29%). Вследствие протекающих в последнее время процессов деградации дубовых насаждений, проблема истощения генетических ресурсов дуба черешчатого очень актуальна. Для восстановления высокоствольных долговечных дубрав в полной мере, выполняющих свою экологическую функцию, необходим качественный посадочный материал, выращенный на селекционно-генетической основе. Одним из перспективных путей сохранения и воспроизводства генетических ресурсов дуба черешчатого является использование биотехнологических подходов. Так как селекция дуба затруднена из-за длительного онтогенеза, периодичности плодоношения, рекальцитрантности семян с эндогенной пораженностью патогенами и крайне низкой черенкуемостью возрастных деревьев, необходима налаженная технология микроклонального размножения посадочного материала в более короткие сроки, свободного от источника инфекции. Разрабатываемая технология микроклонального размножения *Q. robur* предусматривает уточнение элементов технологии укоренения микрочеренков с учетом длительности пассирования их на средах с цитокининами, значимо увеличивающими их высоту, но подавляющими укоренение.

Результаты: укореняли микрочеренки четырех генотипов плюсовых деревьев, раннее введенных в культуру *in vitro* и поддерживаемых на средах с БАП. Как оказалось, длительность культивирования и количество пассажей на средах с БАП понижает ризогенез вплоть до его полного подавления. Выявлена зависимость этого процесса и от солевого состава среды для укоренения. Полный солевой состав в сравнении с разбавленным также ингибирует корнеобразование. Поскольку коэффициенты размножения используемых генотипов не отличаются друг от друга и практически однородны на уровне значимости $P = 0.05$, а условия выращивания унифицированы, признак укореняемости генотипически обусловлен. Оценку укореняемости микрочеренков изучаемых генотипов проводили в четыре этапа: 1 этап – заготовка микропобегов *in vitro*, 2 этап – замачивание микропобегов в различной концентрации ИМК в условиях ламинара, 3 этап – высадка на агаризованную среду обработанных микрочеренков, 4 этап – доращивание в условиях светокультуры. В результате в варианте с замачиванием микропобегов в высокой концентрации в течение 30 минут индуцируется процесс корнеобразования, но в слабой степени, с варьированием этого показателя в зависимости от генотипа от 9 до 50%. Выявлена токсичность раствора ростового вещества в высокой концентрации для микропобегов, которая проявлялась в виде интенсивной некротизации и каллуса, и корневой системы. Замачивание в оптимальной концентрации ИМК в течение 24 часов значительно усиливает процесс ризогенеза и снижает % некротизации при высадке на безгормональную среду ВТМ с половинным солевым составом. Выявлена вариабельность признака укоренения в зависимости от генотипа в пределах 40–80%. Найденная концентрация ростового вещества для укоренения не оказалась универсальной для всех генотипов, что необходимо учитывать и уточнять для конкретного генотипа. Перенасыщенность БАП в тканях микрочеренков при длительном культивировании можно нивелировать, культивируя их в течение двух месяцев на среде с пониженным содержанием БАП, но с добавлением зеатина, увеличивающего облиственность побегов. Способность к ризогенезу увеличивалась у микрочеренков в зависимости от их высоты только у лучшего по укореняемости генотипа.

Выводы: Длительное культивирование *in vitro* на среде с БАП снижает способность к укоренению микропобегов *Q. robur* в зависимости от генотипа, концентрации ростового вещества, длительности его воздействия на микрочеренки и солевого состава среды для укоренения; у лучшего по укореняемости генотипа способность к укоренению зависит от длины микропобега; определен оптимальный состав ростового вещества и длительность его воздействия на микропобеги с эффективностью ризогенеза от 40 до 80%; культивирование микропобегов на среде с пониженным содержанием БАП и добавлением зеатина понижает переизбыток БАП в тканях микропобегов и улучшает последующее укоренение; разработана четырехэтапная технология укоренения микрочеренков, выращенных в условиях *in vitro* и длительно культивируемых на среде с БАП, включающая заготовку черенков, замачивание их в ростовом веществе в условиях ламинара, высадку на среду для укоренения с последующим доращиванием в условиях светокультуры.

Финансирование: Исследование проводится за счет Государственной программы на период с 2021 по 2041 год.

doi 10.18699/PlantGen-2025-206

Экспрессия химерного комплекса генов регуляторов роста пшеницы *GRF4-GIF1* значительно повышает эффективность трансформации и редактирования генов у культивируемых сортов ячменя

Е.М. Тимонова[1, 2]*, А.А. Киселева[1], А.А. Бережная[1], М.А. Нестеров[1], А.М. Короткова[1], А.В. Кочетов[1], Е.А. Салина[1, 2]

[1] *Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия*
[2] *Курчатовский геномный центр ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия*
* *eegorova@bionet.nsc.ru*

Цель: На сегодняшний день опубликовано более 120 работ, описывающих редактирование генов ячменя с помощью технологии CRISPR/Cas9. Однако, несмотря на значительные успехи, модификация коммерческих сортов затруднена, поскольку такие признаки как способность к трансформации и регенерации в культуре *in vitro* является генотип-специфичными. Таким образом, сохраняется потребность в разработке быстрого, надежного и независимого от генотипа протокола для трансформации и регенерации ячменя, для непосредственного улучшения коммерческих сортов. В настоящее время доказано, что экспрессия некоторых генов, участвующих в регуляции дифференцировки и развитии клеток растения может значительно повышать частоту регенерации трансформированных клеток. Так, сверх экспрессия химерной конструкции генов морфогенетических регуляторов пшеницы *GRF4-GIF1* значительно повышала частоту регенерации фертильных трансгенных растений твердой пшеницы, тритикале, риса, овса, цитруса, земляники и других видов растений. Целью данной работы было оценить пригодность химерной конструкции генов *GRF4-GIF1* пшеницы для эффективной трансформации, регенерации и геномного редактирования немодельных сортов ячменя.

Материалы и методы: Для отработки протокола на хозяйственно ценных сортах ячменя Алей, Целинный 5, Г-23035 нами был выбран селекционно-значимый ген ячменя *Nud*, который контролирует признак голозерность/пленчатость зерна, и для которого уже ранее было выполнено редактирование у модельного сорта Golden Promise. Однако редактирование гена *Nud* у немодельных сортов с использованием метода агротрансформации осуществить не удалось. Трансформация эксплантов была проведена методом биобаллистики золотыми частицами согласно методике Светашова и соавторов (2016) с изменениями. Для трансформации использовали бинарный ДНК вектор JD633 (Addgene Plasmid #160393), в который были клонированы последовательности нРНК Nud45 или Nud50. Данный вектор несет в себе ген *Cas9*, селективный ген устойчивости к гигромицину *Htp* и химеру генов *GRF4-GIF1*. В качестве контрольного был выбран вектор L2_41780, не несущий гены морфогенетические регуляторы. Все этапы культивирования *in vitro*, отбора и регенерации растений выполнялись, как описано ранее Marthe с соавторами (2015), с некоторыми изменениями.

Результаты: В данном исследовании, используя усовершенствованные протоколы биолистической трансформации, было проведено генетическое редактирование последовательности гена *Nud* у трех сортов отечественной селекции Алей, Целинный 5 и Г-23035 и с использованием двух векторов JD633 и L2_41780 получены две популяции из 27 и 52 растений Т0 соответственно. В результате было обнаружено, что что стабильные трансформанты получены только в опыте с вектором JD633, содержащим морфогенетические регуляторы *GRF4-GIF1*. Так частота регенерации трансформированных растений в среднем составила 3,8% от числа всех культивируемых эксплантов (14 растений из 27 содержали встройку вектора). При этом в случае с вектором L2_41780 частота регенерации трансформированных растений составила 0% (0 растений из 52 содержали встройку вектора). По результатам секвенирования, среди 27 растений, полученных с использованием вектора JD633, выявлены шесть растений Т0 ячменя сорта Алей, пять растений сорта Целинный 5 и четыре растения сорта Г-23035, имеющих различные моно- и биаллельные мутации в гене Nud.

Выводы: Таким образом нами проведена работа по оптимизации протокола генетической трансформации с целью редактирования генов возделываемых сортов ячменя, на основе системы CRISPR/Cas9. Выяснена сравнительная эффективность использования двух плазмидных векторов для геномного редактирования ячменя немодельных сортов. Показано, что присутствие генов морфогенетических регуляторов GRF4-GIF1 оказало значительное положительное влияние на эффективность трансформации и редактирования. Разработанный протокол может быть использован для трансформации и редактирования других коммерческих сортов ячменя.

Финансирование: Работа выполняется в рамках реализация программы создания и развития центра геномных исследований мирового уровня «Курчатовский геномный центр», соглашение № 075-15-2025-516 от 30.05.2025.

Благодарности: Авторы благодарны Центру коллективного пользования клеточных технологий и геномного редактирования растений ИЦиГ СО РАН за предоставленное для выполнения работы оборудование.

doi 10.18699/PlantGen-2025-207

Верификация результатов поиска генетических детерминант узорчатости древесины у карельской березы на независимой выборке

М.В. Тис*, В.А. Волков, Д.С. Каржаев, Е.Д. Сафронычева, Е.К. Потокина
Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт лесного хозяйства, Санкт-Петербург, Россия
** margarita.tis@yahoo.com*

Цель: Выявление генетических факторов, контролирующих наследование признака узорчатости древесины у карельской березы (*Betula pendula* Roth var. *carelica*), на основе поиска полногеномных ассоциаций между SNP-маркерами и изменчивостью исследуемого признака.

Материалы и методы: Для валидации сцепленных с признаком узорчатости древесины SNP, выявленных при изучении сибсового потомства, полученного в результате реципрокного (прямого и обратного) скрещивания двух родительских пар карельской березы карельского происхождения, была отобрана независимая выборка из 96 неродственных генотипов, среди которых 59 деревьев были отнесены к «карельскому» фенотипу на основании оценки особенностей ствола. Для проведения GWAS для 96 деревьев были получены образцы ДНК, созданы библиотеки для секвенирования и осуществлен запуск Illumina NovaSeq в формате 2×150 пн с целью генотипирования этой дополнительной выборки березы методом RADseq. Процедуру поиска однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) проводили с помощью программы GATK v.4.4.0.0 после фильтрации прочтений с помощью инструмента Trimmomatic и выравнивания на референсную сборку генома *Betula pendula* (Salojärvi et al., 2017) с помощью пакета для картирования коротких прочтений bwa. Для полногеномного поиска ассоциаций использовался пакет Gemma.

Результаты: Общее количество полученных чтений, полученных в результате секвенирования 96 образцов, составило 488 468 908. После коллинга и фильтрации вариантов было получено 62880 снипов, использованных при полногеномном поиске ассоциаций.

Исследование популяционной структуры проводилось с помощью программы ADMIXTURE и анализа принципиальных компонент. Анализ популяционной структуры не выявляет закономерностей в формировании генетических кластеров. Это подтверждает выдвинутую ранее гипотезу о том, что причиной формирования «карельского» фенотипа, скорее всего, является мутация одного или немногих генов.

В результате анализа GWAS на данных независимой выборки на 10 хромосоме было выявлено 9 SNP, ассоциированных с признаком узорчатости древесины в данной выборке. Эти SNP находятся в регионе между 3 182 619 и 3 469 736 основаниями 10 хромосомы, что пересекается с регионом интереса, выявленным в предыдущей работе. Помимо этого, была выявлена ассоциация «карельского» фенотипа с двумя SNP на 13 хромосоме.

Выводы: Проведение анализа GWAS на независимой выборке деревьев различного географического происхождения позволило воспроизвести и валидировать результаты исследования, проведенного на сибсовой популяции в 2023 году.

Дальнейшая работа включает в себя исследование второго по значимости «пика», выявленного при GWAS, расположенного на 13 хромосоме и его сцепления с «горячим регионом» на 10 хромосоме, с целью изучения механизма изменчивости признака узорчатости древесины, а также исследование генов-кандидатов, выявленных в регионе, ассоциированном с «карелиистостью» древесины.

Финансирование: Исследование выполнено в рамках проекта № 22-16-00096 «Выявление генетических факторов, контролирующих признак «узорчатости древесины» у карельской березы, с использованием высокопроизводительного генотипирования» с 2025 г.

doi 10.18699/PlantGen-2025-208

Влияние трансформации растений табака (*Nicotiana tabacum* L.) геном *AtCPK1* с мутацией в соединительном домене на старение, вызванное тепловым стрессом

О.А. Тихонова*, Г.Н. Веремейчик, В.П. Григорчук
ФНЦ Биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, Россия
** olga.tikhonova.kam@mail.ru*

Цель: выяснить, влияет ли трансформация геном CDPK1 *Arabidopsis thaliana* с мутацией в соединительном домене на устойчивость растений табака (*Nicotiana tabacum* L.) к высоким температурам и старению, вызываемому тепловым стрессом.

Материалы и методы: При кратковременном воздействии был оценен стресс-индуцированный уровень экспрессии генов биосинтеза АБК *NtNCED1, NtNCED3,* АБК-зависимого гена *NtSAG12* и СК-зависимого гена *NtACD6* методом ПЦР-РВ. Также методом иммуноферментного анализа был вычислен уровень АБК в растениях при нормальных и стрессовых условиях. После длительного воздействия стресса выполнены экстракция и анализ содержания продуктов деградации хлорофилла методом ВЭЖХ-МС ($МС^2$), измерены длины стеблей растений.

Результаты: При длительном воздействии теплового стресса в растениях наблюдалось снижение роста, исключением были трансгены с кальций-независимой мутацией (KJM-23), скорость роста которых была равна растениям в контрольных условиях. Кроме того, внешне KJM23-трансгенные растения были менее подвержены негативным факторам теплового стресса, проявляющимся в меньшем пожелтении листьев.

Абсцизовая кислота напрямую связана с процессами старения, поэтому было важно изучить экспрессию генов ее биосинтеза, а также экспрессию нескольких протеаз, участвующих в процессах клеточной гибели. В контрольных условиях KJM23-OE-трансгены имели повышенную в 7 раз экспрессию гена биосинтеза АБК *NCED3*. При этом стрессовое воздействие вызывало рост экспрессии *NCED3* в растениях дикого типа и трансгенах с нативной и неактивной формами гена *AtCPK1*. Для растений, трансформированных постоянно активной формой гена *AtCPK1*, напротив, наблюдалось снижение экспрессии до уровня нетрансгенного контроля. Экспрессия *NCED1* остается практически неизменной, вне зависимости от внесения генетической конструкции и стрессового воздействия. В контрольных условиях экспрессия АБК-зависимого *SAG12* увеличивалась как у нативной (в 2 раза), так и у постоянно активной (в 5 раз) формы. А экспрессия гена *ACD6* увеличивается более чем в 5 раз у растений KJM23-OE по сравнению с WT, тогда как у растений KJM4-OE и CPK1-OE она равна дикому типу. Тепловой стресс приводил к увеличению экспрессии генов *SAG12* и *ACD6* более чем в два раза в растениях дикого типа (WT), трансгенов с неактивной (KJM4-OE) и нативной (CPK1-OE) формами. В то же время экспрессия генов *SAG12* и *ACD6* была почти полностью заблокирована у растений KJM23-OE при кратковременном тепловом стрессе.

Мы показали, что относительное содержание продуктов деградации хлорофилла в контрольных условиях достоверно не отличалось у исследуемых форм и нетрансгенных растений. Содержание NCC/DNCC при воздействии длительного температурного стресса увеличивается для нетрансгенных растений и трансгенов с неактивной (KJM4-OE) и нативной (CPK1-OE) мутантными формами в среднем в 12 раз, тогда как в KJM23-трансгенных растениях лишь в 2 раза. Показано повышенное в 1,5 раза относительно дикого типа содержание АБК в растениях с внесением мутантного постоянно активного гена KJM23-OE при нормальных условиях. Внесение неактивной и нативной формы гена не приводило к достоверному увеличению концентрации относительно дикого типа. Кратковременное температурное воздействие вызывало рост концентрации АБК в каждой из форм, исключая KJM23-OE. Для постоянно активной формы, напротив, наблюдалось снижение концентрации до 20 нг/г, равных дикому типу в контрольных условиях.

Выводы: В представленной работе мы показали, что трансформация растений табака конститутивно активной модифицированной формой гена *AtCPK1* (KJM23-OE растения) позволяет значительно смягчить такой негативный эффект теплового стресса, как деградация хлорофилла. Детальный молекулярно-биохимический анализ показал, что устойчивость KJM23-OE растений к длительному тепловому стрессу сопровождается снижением уровня биосинтеза АБК и снижением АБК-зависимых процессов стресс-индуцируемого старения, предположительно за счет CPK-зависимой активации сигнальной системы СК, которая является антагонистом сигнальной системы АБК. Сверхэкспрессия нативной формы гена не имела эффекта на устойчивость к длительному интенсивному тепловому стрессу.

Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ № 24-24-00005.

doi 10.18699/PlantGen-2025-209

Особенности получения эуплазматических линий *Triticum aestivum* с замещением хромосом пшеницы на хромосомы дикого ячменя *Hordeum marinum* ssp. *gussoneanum* (4×)

Н.В. Трубачеева*, Л.А. Першина
Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
** natas@bionet.nsc.ru*

Цель: Увеличению генетического разнообразия мягкой пшеницы способствует интрогрессия в ее геном чужеродных хромосом и замещение цитоплазмы, в качестве одного из источников которых рассматривается дикий ячмень *Hordeum marinum*. Этот вид ячменя характеризуется высокой устойчивостью к абиотическим стрессам и высоким содержанием белка в семенах. При скрещивании *H. marinum* с мягкой пшеницей удается получить ячменно-пшеничные гибриды только в тех случаях, когда ячмень используется как материнская форма. В результате восстановления фертильности таких гибридов образуются замещенные и дополненные аллоплазматические линии (аллолинии), а также амфиплоиды, носители цитоплазмы дикого ячменя. Для оценки влияния отдельных хромосом дикого ячменя на проявление признаков у пшеницы, гомеологии хромосом этих двух видов, а также сравнительных эффектов цитоплазм ячменя и пшеницы, необходимо получение не только аллоплазматических, но и эуплазматических гибридных генотипов (с цитоплазмой пшеницы). В данной работе поставлена задача получить эуплазматические замещенные линии мягкой пшеницы с привлечением ранее созданных аллолиний.

Материалы и методы: В качестве исходного материала были использованы: линия сорта пшеницы Пиротрикс 28 (П28), которая была включена в получение ячменно-пшеничных гибридов и аллолиний; ранее созданный неполный аллоплазматический ячменно-пшеничный амфиплоид (Л-503) и пшенично-ячменные замещенные аллолинии, несущие хромосомы дикого ячменя $1H^{mar}$, $5H^{mar}$ и $7H^{mar}$ (Л-28) или только хромосому $7H^{mar}$ (Л-49). Для получения эуплазматических линий выполнена гибридизация между П28 (материнская форма) и каждым аллоплазматическим генотипом (опылитель). Число хромосом у растений определяли по стандартной методике приготовления препаратов по Фельгену, для выделения 42-хромосомных растений применен анализ MI мейоза, для идентификации наличия хромосом ячменя *H. marinum* – GISH-анализ и молекулярные маркеры, ранее протестированные на специфичность к хромосомам *H. marinum* и цитоплазме этого вида ячменя. Выполнена оценка линий по ряду агрономических признаков.

Результаты: Отбор по продуктивности в самоопыленных поколениях гибридной комбинации (П28 × Л-503) привел к получению цитогенетически стабильных 42-хромосомных растений в F_6 поколении. С использованием GISH-анализа показано, что такие растения содержат пару хромосом *H. marinum*. С помощью хромосом-специфичных молекулярных маркеров определен тип замещения, как $4H^{mar}$(4B). По основным агрономическим признакам эуплазматическая пшенично-ячменная линия $4H^{mar}$(4B) превосходит родительский сорт пшеницы П28. Для получения пшенично-ячменной замещенной линии $7H^{mar}$(7D) с цитоплазмой пшеницы линия сорта пшеницы П28 была опылена аллолинией $7H^{mar}$(7D). В поколении F_3BC_1 выделены фертильные растения с конфигурацией хромосом 21″, а с помощью молекулярных маркеров подтверждено наличие хромосомы $7H^{mar}$ и установлен тип замещения, как $7H^{mar}$(7D). По основным признакам продуктивности эуплазматическая дисомная пшенично-ячменная замещенная линия $7H^{mar}$(7D) не уступает родительскому сорту пшеницы П28, но характеризуется более коротким вегетационным периодом. В результате опыления линии пшеницы П28 аллолинией Л-28 впервые получены фертильные эуплазматические линии мягкой пшеницы, в геномы которых интрогрессированы отдельные хромосомы дикого ячменя $1H^{mar}$, $5H^{mar}$ и $7H^{mar}$ или их разные сочетания. Наличие этих хромосом в геноме эуплазматических линий не нарушает фертильность и продуктивность растений.

Выводы: Впервые получен ряд линий мягкой пшеницы, несущих индивидуальные хромосомы дикого ячменя *H. marinum* ssp. *gussoneanum* на цитоплазме *T. aestivum*. Для их создания применен подход, основанный на скрещивании мягкой пшеницы с аллолиниями (отцовский генотип) или неполным амфиплоидом, носителями хромосом и цитоплазмы дикого ячменя. Это позволило заменить цитоплазму у пшенично-ячменных замещенных линий с ячменной на пшеничную, и впервые получить дисомную пшенично-ячменную линию $4H^{mar}$(4B) с использованием аллоплазматического неполного амфиплоида в качестве «моста» для переноса хромосом ячменя. Установлена высокая компенсационная способность индивидуальных хромосом *H. marinum* по отношению к хромосомам мягкой пшеницы. Получены новые генетические модели для изучения влияния хромосом *H. marinum* на адаптивные и хозяйственно важные признаки в зависимости от их функционирования на разных типах цитоплазмы у мягкой пшеницы.

Финансирование. Исследование поддержано бюджетным проектом FWNR-2022-0017.

doi 10.18699/PlantGen-2025-210

Особенности клонального микроразмножения гибридов тополя, перспективных для выращивания в Воронежской области

О.А. Федорова*, Н.А. Евтушенко, П.М. Евлаков
Воронежский государственный лесотехнический университет им. Г.Ф. Морозова, Воронеж, Россия
** fed-olga78@mail.ru*

Цель: оптимизация условий культивирования *in vitro* наиболее перспективных хозяйственно ценных генотипов тополя с целью дальнейшего получения посадочного материала для плантационного выращивания в Воронежской области.

Материалы и методы: Объекты исследований – 5 генотипов тополя, отличающихся быстрыми темпами роста, секвестрации углекислого газа, зимостойкостью и засухоустойчивостью: ‘ЭС-38’ (‘Воронежский гигант’), ‘Регенерата’, ‘Ведуга’, ‘Осокорь’, ‘Сакрау’. Сбор материала проводили из природных популяций изучаемых объектов в Воронежской области. В качестве эксплантов использовали неодревеснившие сегменты побегов растений текущего года 1,5–2,0 см длиной, с 2–3 междоузлиями, срезанные с верхней части ветвей. Экспланты отбирали с середины июня до середины августа. Испытывали 5 режимов стерилизации эксплантов и 2 варианта питательных сред, дополненных регуляторами роста. Коллекция микроклонов древесных растений, созданная *in vitro*, культивировалась при температуре 25±2 °С, 16-часовом фотопериоде с дополнительным искусственным освещением (2–3 клк). Пересадку осуществляли каждые 21-28 дней.

Результаты: Получены асептические культуры тополя ‘ЭС-38’, ‘Регенерата’, ‘Ведуга’, ‘Осокорь’, ‘Сакрау’ с высоким регенерационным потенциалом. Установлено, что оптимальным способом стерилизации стеблевых сегментов тополя является использование мертиолята (0,025%) и Белизны с предварительной предобработкой препаратом Domestos. При этом среднее значение асептических жизнеспособных культур составляет 72,4%. Наибольшее количество стерильных эксплантов, сформировавших основной побег, получено на средах WPM (Woody Plant Medium) и MS (Murashige and Skoog), дополненных гормонами БАП (6-бензиламинопурин) 0,3 мг/л и ГК (гиббереллловая кислота) 0,2 мг/л. Их число колеблется от 57,1 до 95,2% на среде WPM и от 47,6 до 95,2% на среде MS. Отмечено, что наибольшей регенерационной способностью обладают генотипы тополя ‘Сакрау’ и ‘ЭС-38’ – до 95.5% жизнеспособных эксплантов. Добавление ГК способствует элонгации индуцированных побегов, что приводит к формированию побегов с хорошим ростом и развитию листовых пластинок. Использование БАП в составе питательных сред WPM и MS в концентрации выше 0,5 мг/л на стадии мультипликации изучаемых гибридов тополя негативно сказывается на процессе – появляются витрифицированные побеги, сомаклональная изменчивость. При оптимальных соотношениях БАП 0,2–0,5 мг/л коэффициент мультипликации колеблется от 3–6 побегов/эксплант. Наибольшее значение показателя отмечено на среде MS, дополненной БАП 0,5 ИУК (индолил-3-уксусная кислота) 0,2 мг/л – среднее значение для пяти генотипов тополя составляет 4,6. При сравнении двух сред отмечено, что для ‘Сакрау’, ‘Регенерата’ ‘Осокорь’ ‘ЭС38’ наилучшие показатели по коэффициенту мультипликации получены при культивировании на средах MS. Для генотипа ‘Ведуга’ наиболее оптимальной является среда WPM, что возможно связано с индивидуальными особенностями данной культуры. Наибольшей способностью к регенерации обладал генотип ‘ЭС-38’ – коэффициент мультипликации составлял 5,8, низкая регенерационная способность наблюдалась у генотипа Ведуга – коэффициент мультипликации 3,8. Исследования процесса ризогенеза *in vitro* растений тополя позволили установить способность изученных генотипов за счет содержания внутренних эндогенный гормонов укореняться на безгормональных средах. Максимальное число укорененных побегов, с большим количеством корней и их длиной были получены на средах MS, ½ MS и WPM, ½WPM, дополненных ауксинами 0,2 мг/л ИМК (инлолил-3 масляная кислота).

Выводы: В ходе выполнения исследований получены асептические культуры 5 генотипов тополя ‘ЭС-38’, ‘Регенерата’, ‘Ведуга’, ‘Осокорь’, ‘Сакрау’ с высоким регенерационным потенциалом. Полученные культуры хранятся в *in vitro* коллекции ценных генотипов древесных растений лаборатории Анализа ПЦР НИИ ИТЛК ВГЛТУ методом субкультивирований на питательных средах MS и WPM. Отработаны основные параметры проведения основных стадий микроразмножения с учетом индивидуальных особенностей генотипов растений.

Финансирование: Исследование проводилось в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № 1023013000020-6-4.1.2 «Отбор хозяйственно ценных и устойчивых к изменению климата древесных культур, отличающихся высокой биологической продуктивностью и потенциалом секвестрации углерода с учетом региональных почвенно-климатическим особенностей для реализации лесоклиматических проектов (FZUR-2023-0002)».

doi 10.18699/PlantGen-2025-211

Роль гена *HOS1 Arabidopsis thaliana* в адаптации к холодовому стрессу

А.В. Фиалко*, Ю.А. Югай, Ю.Н. Шкрыль, В.П. Булгаков
ФНЦ Биоразнообразия Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, Россия
** fialko2000@mail.ru*

Цель: Получить мутантную линию *hos1 Arabidopsis thaliana* для изучения взаимодействие гена *HOS1*-RING-пальцевой E3-убиквитин-лигазы с другими известными генами холодового пути, влияния мутации на стабильность клеточной мембраны и биосинтеза хлорофилла, во время длительного холодового стресса.
Материалы и методы: В данной работе использовали модельное растение *A. thaliana*: контрольную (WT) и мутантную линию *hos1-3*^{Cas9}. Методом геномного редактирования CRISPR/Cas9 провели мутагенез гена *HOS1 A. thaliana*. Для подтверждения наличия мутации в гене использовали секвенирование по Сенгеру и генотипирование методом анализа подвижности гетеродуплекса. Оценку стабильности клеточной мембраны и уровня хлорофилла в мутантной *hos1-3*^{Cas9} и контрольной (WT) линиях, проводили методом измерения электролитов TDS-метром и спектрофотометрическим методом соответственно. Измерение экспрессии генов осуществляли методом ПЦР в реальном времени.
Результаты: Анализ стабильности мембраны показал, что мутантные линии *hos1* проявили повышенную устойчивость к продолжительному холодовому воздействию по сравнению с диким типом. При проведении анализа на содержание хлорофиллов не было выявлено значительного влияния мутации в гене *HOS1* на функционирование фотосинтетического аппарата *A. thaliana* во время холодового стресса. Уровень экспрессии холодовых генов пути CBF (c-repeat-binding factors) у мутантов *hos1* при первичной обработке холодом, акклиматизации и повторном холодовом воздействии оставался в несколько раз выше, чем у контрольной линии, что указывает на большую устойчивость к холодовому воздействию мутантной линии *hos1*, нежели контрольной. Экспрессия деацетилазы HD2C была повышена при первом воздействии холодом и в период акклиматизации, однако после повторного воздействия уровни экспрессии в мутантной линии и у контрольных растений сравнялись, что может говорить о компенсаторной функции HOS1 – HD2C. Однако HOS1 не влияет на активность HDA6. Также HOS1 положительно влияет на экспрессию *CHS* при холодовом стрессе, возможно, путем модуляции путей, выходящих за рамки традиционного CBF-зависимого пути ответа на холод. Помимо этого, HOS1 положительно влияет на работу *MYC2* и *FLC* как при нормальных, так и в холодовых условиях.
Выводы: Полученные данные свидетельствуют о том, что ген *HOS1* играет важную роль в холодовой адаптации. Нокаут гена *HOS1 A. thaliana* при холодовом стрессе ведет к увеличению работы холодовых генов, а клеточная мембрана становится более устойчивой к внешним факторам. Все это в совокупности говорит о лучшей акклиматизации *A. thaliana* с нокаутом гена *HOS1*.
Финансирование: Работа выполнена в рамках государственного задания ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН (№ 0207-2024-0022).

doi 10.18699/PlantGen-2025-212

Гены халконсинтаз вовлечены в ответные реакции растений чеснока (*Allium sativum*) на абиотические стрессы

М.А. Филюшин*, О.К. Анисимова, А.В. Щенникова, Е.З. Кочиева
Институт биоинженерии им. К.Г. Скрябина ФИЦ Биотехнологии Российской академии наук, Москва, Россия
** michel7753@mail.ru*

Цель: Флавоноиды являются одними из основных типов вторичных метаболитов растений и, обладая антиоксидантной активностью, играют важную роль в защите растений от биотических и абиотических стрессоров. Луковицы и листья чеснока *Allium sativum* содержат широкий спектр различных вторичных метаболитов, в том числе флавоноидов. Однако, несмотря на значимость, гены флавоноидного пути у чеснока не идентифицированы и не изучены. Целью проекта стала идентификация в геноме чеснока генов халконсинтаз (CHS), которые кодируют первый фермент пути биосинтеза флавоноидов, и определение профилей их экспрессии в ответ на абиотические стрессы и фитогормоны.

Материалы и методы: Поиск последовательностей генов халконсинтаз проводили в геномных и транскриптомных данных чеснока *A. sativum* (сорт Ershuizao; PRJNA606385) в базе данных AlliumDB (https://allium.qau.edu.cn/). Профили экспрессии *AsCHS* определяли в корнях и листьях проростков чеснока (сорт Сармат), подвергнутых воздействиям солевого стресса (100 мМ NaCl), засухи (10% PEG-6000), холодового стресса (+4С), затемнения, абсцизовой кислоты (100 мкМ) и метилжасмоната (100 мкМ) в течение 6 и 24 часов.

Результаты: В геноме чеснока было идентифицировано восемь генов халконсинтаз (*AsCHS1–AsCHS8*). Последовательности генов различались по длине (1182–2010 п.н.) и содержали от одного до трех экзонов. Белки AsCHS1–8 имели сходный размер (375–397 а.о.) и предсказанные физико-химические характеристики. Все последовательности AsCHS содержали халконсинтазные домены Chal_sti_synt_N (PF00195.16) и Chal_sti_synt_C (PF02797.12), консервативные остатки (Cys167, Phe218, His309, Asn342) активного центра фермента, сайты связывания с малонил-КоА и сигнатурную последовательность халконсинтаз, что может свидетельствовать об их функциональной значимости.

В ответ на стрессовые факторы в корнях и листьях проростков чеснока изучена динамика экспрессии генов халконсинтаз: выявлена значимые уровни экспрессии только *AsCHS8*, тогда как остальные гены либо не экспрессировались (*AsCHS1*, *5*, *6*, *7*), либо выявлены следовые количества транскриптов (*AsCHS2*, *3*, *4* в листьях при холодовом стрессе). Солевой стресс стимулировал экспрессию *AsCHS8*: в корнях экспрессия гена возрастала в 2.7 (6 ч) и 2.9 (24 ч) раза в сравнении с контролем; в листьях – повышалась в 1.3 раза (6ч), но снижалась в 1.2 раза через 24 ч воздействия. В условиях засухи экспрессия *AsCHS8* в корнях снижалась, тогда как в листьях сначала наблюдалась активация экспрессии, а затем через 24 ч стресса резкое снижение до следовых значений. Холодовой стресс индуцировал экспрессию *AsCHS8* в начале воздействия (6 ч) в корнях (в 6.6 раза) и листьях (в 8.6 раза); через 24 ч стресса уровень транскриптов в корнях возрастал в 113.3 раза, а в листьях, наоборот, уменьшался в 1.5 раза. Экзогенная обработка растений чеснока фитогормонами подавляла экспрессию *AsCHS8* в корнях до нулевых значений. В листьях экспрессия гена существенно снижалась на протяжении 24 ч в случае АБК, в то время как при обработке MeJA уровень транскриптов сначала увеличивался в 1.2 раза (6 ч) и через 24 ч после обработки уменьшался до следовых количеств.

Также проведен анализ зависимости экспрессии гена *AsCHS8* в корнях и листьях чеснока от наличия освещения. Полученные результаты свидетельствуют о светозависимой регуляции экспрессии гена *AsCHS8*: в корнях в норме, то есть в темноте, экспрессия данного гена минимальна, а при наличии освещения экспрессия гена значительно возрастает; в листьях при затемнении в течение 6 ч экспрессия гена драматически снижалась, но при длительном затемнении (24 ч) экспрессия гена восстанавливалась до уровня, сопоставимого с таковым в освещенных листьях, что может быть связано с активацией защитных механизмов и синтеза флавоноидов.

Выводы: В геноме чеснока впервые идентифицировано и охарактеризовано семейство генов халконсинтаз (*AsCHS1–8*), проанализирована их экспрессия в ответ на абиотические стрессоры (засоление, засуха, холод), экзогенные фитогормоны (АБК, MeJA) и наличие освещения. В листьях и корнях чеснока выявлена экспрессия только гена *AsCHS8*, остальные гены *AsCHS* либо не экспрессировались, либо выявлены следовые количества транскриптов. Абиотические стрессоры сходным образом влияли на экспрессию *AsCHS8* в листьях, в то время как эффект, оказываемый на корни, был специфичен для каждого стрессора.

Финансирование: Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 24-76-10005 (https://rscf.ru/project/24-76-10005/) и Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

doi 10.18699/PlantGen-2025-213

Эмбриоиды моркови (*Daucus carota* L.) как удобный объект для тестирования действия различных веществ на примере разработки протокола удвоения генома для производства удвоенных гаплоидов

М.Г. Фомичева
ФГБНУ Федеральный Научный центр овощеводства (ФГБНУ ФНЦО), п. ВНИИССОК, Московская обл., Россия
maria.fomicheva.1@yandex.ru

Цель: Получение удвоенных гаплоидов моркови столовой (*Daucus carota* L.) ускоряет селекцию этой важной овощной культуры на несколько поколений. Однако гаплоидные растения часто не удваивают геном спонтанно, вследствие чего требуется искусственное удвоение хромосомного набора, что осложняется отсутствием эффективных протоколов. Мы изучали токсическое действие и эффективность удвоения ДНК моркови при обработке различными концентрациями антимитотических агентов – колхицина и трифлуралина – с целью разработки наиболее эффективного метода удвоения генома моркови столовой.

Материалы и методы: Гаплоидные эмбриоиды моркови были получены в культуре микроспор. Плоидность была протестирована с помощью проточного цитометра. Для экспериментов по обработке трифлуралином гаплоидные эмбриоиды помещали в стеклянную культуральную посуду со средой и добавляли трифлуралин в концентрациях 0,001, 0,01, 0,1 и 1 г/л. Для обработки колхицином гаплоидные эмбриоиды культивировали в 6-луночных планшетах со средой и колхицином в концентрациях 0,01, 0,1 и 1 г/л. Обработки проводили в темноте для предотвращения деградации антимитотических агентов под воздействием света. После обработки в течение 48 часов эмбриоиды промывали стерильной водой и переносили на свежую среду. Через 7–10 дней после обработки эмбриоиды переносили в пробирки со средой для регенерации растений. Через 1,5–2 месяца определяли плоидность растений-регенерантов с помощью проточной цитометрии. В качестве внешнего стандарта использовали диплоидное донорное растение моркови, выращенное из семени. Листья растений измельчали в лизирующем буфере Гэлбрейта, затем профильтровали и окрашивали ядра иодидом пропидия. Далее ядра анализировали на проточном цитометре. Растения разной плоидности доращивались и высаживались для адаптации в торф.

Результаты: Впервые мы протестировали обработку моркови антимитотическими агентами на стадии эмбриоидов. Интенсивный вторичный эмбриогенез эмбриоидов моркови позволил нам получить большое число эмбриоидов одного генотипа – не менее 30 штук на каждую концентрацию антимитотического агента. Малый размер эмбриоидов позволяет проводить обработки в небольших объемах с минимальным количеством реагентов. Мы показали, что 0,01–1 г/л колхицин не нарушает развитие моркови. Трифлуралин не оказывал токсического действия при концентрациях 0,001–0,01 г/л, но 0,1 г/л трифлуралин снижал выживаемость в среднем на 40% и замедлял регенерацию проростков. При концентрации 1 г/л трифлуралина все эмбриоиды погибали. С помощью проточной цитометрии мы показали, что 0,01–1 г/л колхицин и 0,001–0,1 г/л трифлуралин могут удваивать геном моркови. Самый высокий процент диплоидов наблюдался при 1 г/л колхицина (34%) и 0,1 г/л трифлуралина (28%). Самый высокий процент диплоидов вместе с миксоплоидами (частичными диплоидами) был при обработке 0,01 и 0,1 г/л трифлуралином (более 70%) и 1 г/л колхицином (56%). При повышении концентрации антимитотических агентов снижалось число гаплоидных растений, и при этом повышалось число растений с большей плоидностью, в том числе количество тетраплоидов и октоплоидов. Насколько нам известно, трифлуралин тестировался впервые для удвоения генома у растений моркови.

Растения с развитой корневой системой переносились в торф, где успешно адаптировались к условиям *ex vitro* в отличие от данных предыдущих исследований, в которых обработке подвергали растения *in vitro*, после чего их сразу переносили для адаптации, в результате чего растения погибали.

Выводы: В нашем исследовании мы выявили наиболее эффективные и наименее токсичные концентрации колхицина и трифлуралина и разработали протокол обработки эмбриоидов моркови, который можно использовать для производства DH-линий моркови столовой и дальнейшего улучшения методов удвоения генома.

Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ № 23-76-01034.

doi 10.18699/PlantGen-2025-214

Изменение агрегативности клеток в суспензионной культуре *Arabidopsis thaliana* при нокауте генов семейства GAUT

Т.А. Франкевич*, Н.В. Пермякова, Ю.В. Сидорчук, Е.В. Дейнеко
Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
** frankevichta@bionet.nsc.ru*

Цель: Клетки растений, в частности суспензионные клеточные культуры, представляют собой перспективную платформу для биосинтеза биофармацевтических белков. Однако одной из ключевых проблем этого метода является высокая агрегативность, ограничивающая их продуктивность. Существуют примеры показывающие, что снижение агрегативности растительных суспензионных клеточных культур приводит к увеличению выхода вторичных метаболитов. Поэтому поиск новых подходов к уменьшению агрегативности суспензий остается актуальной задачей. Основная причина агрегативности может быть связана с межклеточной адгезией, характерной для растений. Важную роль в данном процессе играют гены семейства GAUT, кодирующие пектины клеточных стенок, в частности гомогалактуронан. В настоящее время известно 15 генов семейства GAUT, однако только часть из них участвуют в биосинтезе и полимеризации гомолактуронана. В данном исследовании нами были изучены гены *GAUT1*, *GAUT7* и *GAUT8* и влияние нокаута этих генов на агрегативность клеток в суспензионной культуре.

Материалы и методы: Для получения мутаций в генах *GAUT1* и *GAUT7* разработаны две мультиплексные генетические конструкции на основе системы CRISPR/Cas9, несущие по две направляющих РНК для получения крупных делеций в целевых генах. Далее была проведена агробактериальная трансформация и отобраны растения с нокаутами по генам *GAUT1* и *GAUT7*. Культура линии Quasimodo1, несущая природную мутацию по гену *GAUT8* была предоставлена доктором Стефаном Вергером, сотрудником департамента генетики леса и физиологии растений Шведского университета аграрных культур. Из мутантных растений были получены каллусные и суспензионные культуры, у которых оценивались уровень накопления биомассы, агрегативность, количество пектинов, уровень накопления белка GFP, а также был проведен микроскопический анализ.

Результаты: Результаты сравнительного анализа показали, что прирост биомассы у линий GAUT1 и GAUT7 не отличался от контрольного образца, в то время как линия GAUT8 демонстрировала более высокий прирост биомассы. Агрегативность у линий GAUT1 и GAUT7 была увеличена на 21 и 18% соответственно, тогда как у линии GAUT8 агрегативность была снижена на 46%. Анализ пектинового состава выявил различия в содержании пектинов у линий GAUT1 и GAUT7 по сравнению с контролем, тогда как уровень пектинов у GAUT8 оставался на том же уровне. Микроскопический анализ показал морфологические различия между всеми мутантными линиями по сравнению с контролем. агрегаты клеток GAUT1 и GAUT7 были крупнее и темнее, что может свидетельствовать о некротических изменениях и накоплении неполимеризованного пектина. Клеточная линия GAUT8 напротив характеризуется более мелкими и округлыми клетками в агрегатах. В результате, количество рекомбинантного белка у линий GAUT1 и GAUT7 было снижено до 5,7 и 5,6% соответственно по сравнению с 16% контрольной линии.

Выводы: Полученные данные свидетельствуют о том, что редактирование генов семейства GAUT оказывает значительное влияние на агрегативность суспензионных клеточных культур и уровень экспрессии рекомбинантного белка. Гены *GAUT1* и *GAUT7* не являются перспективными мишенями для уменьшения агрегативности, поскольку их инактивация приводит к негативным последствиям. В то же время мутация в гене *GAUT8* способствует снижению агрегативности клеток и повышению уровня экспрессии белка, что делает этот ген перспективным кандидатом для дальнейших исследований. В будущем планируется детальное изучение других генов семейства GAUT с целью выявления оптимальных мишеней для регуляции агрегативности суспензионных культур *Arabidopsis thaliana*.

Финансирование: Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, грант № FWNR-2022-0022.

doi 10.18699/PlantGen-2025-215

Анализ полиморфизма генов восстановления фертильности Rf_1 и Rf_2 у *Beta vulgaris* L.

М.Б. Хакимов[1, 2]*, О.Г. Смирнова[1], Е.А. Салина[1]
[1] *Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия*
[2] *Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия*
* *m.xakimov@bionet.nsc.ru*

Цель: Гены восстановления фертильности *Rf* (*Restorer of fertility*) играют ключевую роль в селекции гибридных сортов свёклы, обеспечивая восстановление мужской фертильности у линий с цитоплазматической мужской стерильностью. Из двух известных генов восстановления фертильности, Rf_1 и Rf_2, основным считается Rf_1. Эти гены расположены соответственно в 3 и 4 хромосомах. Целью данного исследования являлся анализ полиморфизма генов *Rf* в коллекции образцов свёклы *Beta vulgaris* для выявления аллельных вариантов, ассоциированных с фертильностью пыльцы.
Материалы и методы: В исследовании было использовано 47 образцов столовой свёклы, 39 – сахарной свёклы и 10 – кормовой свёклы из коллекции ВИР. ДНК выделяли методом CTAB. Концентрацию ДНК измеряли на приборе Introgen Qubit 3.0 и доводили добавлением ионизированной воды до 20 нг/мкл. ПЦР проводили на аппарате BioRad T100 согласно протоколу. Для идентификации гена Rf_1 были использованы CAPS маркеры 17-20L и s17 и ПЦР маркер 20L-int; для гена Rf_2 был использован ПЦР маркер o7. Проверку продуктов ПЦР на наличие/отсутствие генов *Rf* и аллельные варианты проводили с помощью электрофореза в 1% агарозном геле.
Результаты: У 58 образцов выявлены продукты ПЦР, характерные для обоих генов *Rf*. У 10 образцов выявлены продукты ПЦР, характерные только для гена Rf_1. Среди изученных образцов характерные для гена Rf_2 продукты ПЦР всегда встречались только совместно с продуктами ПЦР для гена Rf_1. Амплификация с праймерами для маркера 17-20L выявила наличие целевого продукта размером 5600 п.н. у 38 образцов. У 21 образца дополнительно присутствовал ампликон размером 2700 п.н., по одному образцу имели соответственно дополнительные ампликоны 4800, 3400, 3400 + 2250, 2700 + 2250 п.н. У двух образцов были нехарактерные продукты размером 4800 + 3400 либо 2700 п.н. При использовании маркера s17 целевой продукт размером 1800 п.н. выявлен у 32 образцов. У 15 образцов присутствовал дополнительный ампликон размером 1900, у трех – 1300 п.н. Пять образцов имели дополнительные продукты 1900 + 1300, два 1900 + 850, один 1900 + 950, один 1900 + 1300 + 950 п.н., у четырех образцов присутствовал только ампликон 1900 п.н. При использовании маркера o7 характерные продукты размером 1400 и 2600 п.н. описаны у 52 образцов. У одного образца обнаружен нехарактерный продукт размером 1700 п.н. У пяти образцов выявлены различные сочетания ампликонов размером 1400 и 2600 и 1700 п.н. Следует отметить, что при использовании ПЦР маркера o7 обнаружен всего один ранее не описанный ПЦР продукт; всего было 6 образцов, где ампликоны отличались от ожидаемых. Для CAPS маркера s17 их число составило 31, а для CAPS маркера 17-20L – 27. Использование ПЦР маркера 20L-int во всех образцах дало неопределенные результаты.
Выводы: Изучение 96 образцов свёклы выявило амплификацию четырех неспецифических продуктов ПЦР для каждого из маркеров 17-20L и s17. Количество образцов с такими продуктами составило соответственно 58 и 51%. Согласно литературным тестирование образцов свёклы с использованием этих маркеров должно давать сопоставимые результаты, что не наблюдалось в нашем исследовании. Самым консервативным маркером оказался o7. У всех трех подтипов свёклы (сахарной, столовой, кормовой) были образцы, у которых не проходила амплификация. Самое большое разнообразие продуктов ПЦР обнаружено у сахарной свёклы (29 образцов). В дальнейшем требуется повторение экспериментов и секвенирование последовательностей нехарактерных продуктов ПЦР для обнаружения полиморфизмов генов *Rf*. Выявленное аллельное разнообразие генов *Rf* у сахарной свёклы может быть использовано для оптимизации создания гибридных семян.
Финансирование: Исследование поддержано бюджетным проектом № FWNR-2022-0017.

doi 10.18699/PlantGen-2025-216

Маркер-опосредованная селекция чечевицы в условиях Северного Казахстана

Г.Ж. Хасанова[1]*, С.А. Джатаев[1], М.М. Кузбакова[1], Н.Ж. Жанбыршина[1], Ю.Н. Шавруков[1, 2]
[1] *Казахский агротехнический исследовательский университет им. С. Сейфуллина, Астана, Республика Казахстан*
[2] *Университет Флиндерса, Колледж науки и инженерии, Биологические науки, Аделаида, Австралия*
* *khasanova-gulmira@mail.ru*

Цель: Разработка и применение высокоэффективных молекулярных SNP-маркеров, на основе метода ‘Allele-specific qPCR (ASQ)’ для исследования генетического полиморфизма и повышения продуктивности сортообразцов из генетических коллекций, а также селекционных линий из гибридных популяций чечевицы для выбора генотипов с оптимальным временем зацветания и увеличенной высотой прикрепления нижнего боба.

Материалы и методы: В работе использовали образцы чечевицы из мировых генетических коллекций (ВИР, России и AGG, Австралии), а также родители и гибридные селекционные линии. Методы исследований – полевые и лабораторные. Полевые опыты проводили по методическим указаниям ВИР и Госсортиспытаний РК. Для молекулярно-генетических исследований использовали Базы данных NCBI и GenomeNet. Секвенирование по Сэнгеру проводили с использованием реагентов Brilliant Dye Terminator Cycle Sequencing kit. Генотипирование ASQ проводили на приборе QuantStudio-7 (Thermo Fisher Scientific, США) на основе флуоресценции красителей FAM и VIC, в присутствии затухателя BHQ1.

Результаты: Проведено размножение, отбор и анализ образцов чечевицы из мировых генетических коллекций (ВИР, Россия и AGG, Австралия), родителей и гибридные селекционные линии по признакам времени зацветания и высоты прикрепления нижнего боба для работы по проекту. По итогам полевых исследований вегетационный период образцов чечевицы составил 97–107 дней. Массовые всходы отмечали на 12–13-е сутки после посева. С наименьшим сроком созревания выделились образцы ILL-485, Славянка, ILL-1552 и ВИР, к-192. Полевая всхожесть семян чечевицы по питомнику составила от 53 до 99%. По сохранности растений к уборке отличились Шырайлы, Веховская, Розовая, 5-12. Высокорослые образцы: Веховская, PI-451764, 1-10, ILL-485, PI-557499, Славянка. По высоте прикрепления нижнего боба: ILL-485, PI-557499, к-452, к-467 и 5-12. Масса 1000 семян в среднем составила 40,5–55,5 г. По урожайности выделились Веховская, PI-451764, Крапинка. Для молекулярно-генетических исследований чечевицы проведен биоинформатический анализ и определены генетические участки, подходящие для дальнейшей работы. Были разработаны праймеры, и проведено секвенирование фрагментов генов *LcSOC1* (Suppressor of Overexpression of Constans 1) и *LcELF3* (Early flowering 3) у образцов из коллекции чечевицы и у родительских форм 5 гибридов. По гену *LcSOC1* выделены два SNP, разработаны и адаптированы молекулярные SNP-маркеры ASQ у изучаемых генотипов чечевицы. По гену *LcELF3* у 8 проверенных генотипов выделены шесть SNP между родительскими формами. На основе выделенных SNP для обоих генов разработали аллель-специфические молекулярные маркеры LcSOC1-SNP1 и.LcEFL3-SNP3. С помощью разработанных SNP маркеров провели генотипирование и выявили генетический полиморфизм по изучаемым генам среди родителей и их гибридов, а также в международных генетических коллекциях чечевицы. На основе проведенного анализа генотипирования провели маркер-опосредованную селекцию (МОС) среди изученных генотипов. Результаты МОС указывают на эффективный отбор по маркеру LcSOC1-SNP1 у генотипов чечевицы по признаку высоты прикрепления нижнего боба, а по маркеру LcEFL3-SNP3 – по признаку раннего зацветания.

Выводы: Проведено размножение, отбор и анализ образцов чечевицы из мировых генетических коллекций (ВИР, Россия и AGG, Австралия), родителей и гибридные селекционные линии по признакам высоты прикрепления нижнего боба и времени зацветания. Проведен биоинформатический анализ основных генов *LcSOC1* и *LcELF3*, контролирующих изучаемые признаки – высоту прикрепления нижнего боба и время зацветания. На основе секвенирования выделены SNP, разработаны и использованы молекулярные маркеры ASQ по генам у изучаемых образцов чечевицы. На основе проведенного анализа генотипирования провели маркер-опосредованную селекцию (МОС) среди изученных генотипов по маркеру LcSOC1-SNP1 у генотипов чечевицы по признаку высоты прикрепления нижнего боба, а по маркеру LcEFL3-SNP3 – по признаку раннего зацветания.

Финансирование: Исследование проведено в рамках грантового финансирования Комитетом науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан. КН МНВО РК ИРН: AP23489286 «Маркер-опосредованная селекция образцов мировой коллекции и гибридных популяций чечевицы по генам, контролирующим время зацветания растений и высоту прикрепления нижнего боба».

doi 10.18699/PlantGen-2025-217

Светозависимая регуляция биосинтеза эфиров шиконина в 30-летней клеточной линии воробейника *Lithospermum erythrorhizon*

А.А. Хопта[1]*, С.А. Силантьева[1], Е.П. Субботин[2], Г.Н. Веремейчик[1]
[1] *ФНЦ Биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, Россия*
[2] *Институт автоматики и процессов управления Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, Россия*
* *hopta10@mail.ru*

Цель: Изучить влияние регулируемого LED освещения с использованием светодиодных монохромных источников синего (440 нм), зеленого (520 нм) и красного (660 нм) света на активацию вторичного метаболизма в клеточной культуре *Lithospermum eryrthrorhizon*.
Материалы и методы: Клеточная линия *L. eryrthrorhizon* была получена и селектирована более 30 лет назад. В проведенных экспериментах использовались светодиодные монохромные источники синего (440 нм), зеленого (520 нм) и красного (660 нм) света. Спектрометрические данные измерений получены с помощью спектрофотометра PG200N. Каллусную культуру выращивали в четырехсекционных камерах с источниками света, разработанными и изготовленными в ИАПУ ДВО РАН. После 30 дней культивирования при различных условиях освещения проводили морфометрический анализ ростовых показателей. Содержание эфиров шиконина анализировали с помощью спектрофотометра. Для обработки статистических данных использовался пакет программного обеспечения STATISTICA 12.6.
Результаты: Мы показали, что воздействие теплого белого света, красного, зеленого и сочетания красного и синего с интенсивностями 100 и 300 µmol $m^{-2}s^{-1}$, что данные воздействия не оказали негативного влияния на рост культуры. Однако воздействия теплого белого, зеленого и сочетания красного и синего с интенсивностями 100 и 300 µmol $m^{-2}s^{-1}$ полностью заблокировало биосинтез эфиров шиконина в клеточной культуре *L. erythrorhizon.* При этом воздействие красного света не оказало ингибирующего действия. Мы показали, что понижение интенсивности красного света до 50 µmol $m^{-2}s^{-1}$ приводит достоверному увеличению прироста (15%) и накопления эфиров шиконинов (15%). Увеличение концентрации стандартного индуктора, глицерата меди с 0,3 до 2,4 мг/л оказывает ингибирующее действие на рост при увеличении содержания шиконина, что в сумме не сказывается продукции эфиров шиконина при выращивании в темноте. При выращивании культуры при красном свете с интенсивностью 50 µmol $m^{-2}s^{-1}$ мы не обнаружили негативного действия повышения концентрации глицерата меди на рост культуры. При этом наблюдали положительный эффект на содержание эфиров шиконина. Как итог, повышение концентрации глицерата меди до 2,4 мг/л и выращивание при красном свете с интенсивностью 50 µmol $m^{-2}s^{-1}$ позволяет увеличить продуктивность культуры более чем в 2 раза.
Выводы: 1 Наиболее эффективным для выращивания клеточных культур *L. eryrthrorhizon*, продуцирующих эфиров шиконина метаболиты является красный свет.
2 Синий свет оказывает ингибирующий эффект на рост культур *L. eryrthrorhizon*.
3 Понижение интенсивности красного освещения оказывает наилучший эффект на продукцию эфиров шиконина в клеточной культуре *L. eryrthrorhizon.*
Финансирование: Работа выполнена в рамках государственного задания ИАПУ ДВО РАН (тема FWFW-2024-0004) и в рамках государственного задания ФНЦ биоразнообразия наземной среды Восточной Азии ДВО РАН (тема № 0207-2024-0022).

doi 10.18699/PlantGen-2025-218

Возможность создания продуктивного каучуконоса методами генной инженерии, растущего в средней полосе России

Е.А. Царькова*, А.С. Егорова, А.К. Гапоненко
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия
** ts.el@mail.ru*

Цель: Натуральный каучук (НК) является уникальным природным полиизопреном, в гидрофобную неполярную структуру которого природой на наноуровне встроены гидрофильные полярные фрагменты белков различного строения. Все перечисленные выше обстоятельства способствовали развитию в мире разработок по использованию альтернативных гевее культур для промышленного производства натурального каучука.
Материалы и методы: Наличие в НК белковых фрагментов обеспечивает повышение межмолекулярного взаимодействия макромолекул каучука между собой, что повышает уровень когезионной прочности сырых резиновых смесей, приводит к резкому росту способности макромолекул к ориентационной кристаллизации и, следовательно, к улучшению адгезионных свойств сырых резиновых смесей и повышению физико-механических свойств вулканизатов. Уникальные адгезионные свойства НК позволили создать на его основе не только высококачественные резинотехнические изделия, но и множество клеев, широко применяющихся в резиновой промышленности, производстве шин, и многих других отраслях обрабатывающей промышленности. Все попытки исследователей на протяжении многих десятилетий получить синтетическим путем полный аналог НК по структуре и свойствам не увенчались успехом. Поэтому НК остается важнейшим сырьем для резиновой промышленности. Единственным источником НК в мире на сегодняшний день остается гевея бразильская, которую выращивают в основном в странах Южной и Юго-Восточной Азии: Малайзии, Индонезии, Таиланде, Вьетнаме, Китае, Индии и некоторых других южных странах. Нами предлагается методом редактирования генома увеличить содержание НК в кок-сагызе и улучшить качества НК у одного из растений рода *Helianthus* (подсолнечника, топинамбура или топинсолнечника) системой CRISPR/Cas заменив их гены синтеза НК на гены бразильской гевеи.
Результаты: С помощью редактирования генома возможно вдвое увеличить НК в кок-сагызе путем увеличения экспрессии гена *1-FEH* фермента фруктан-1-экзогидролаза, который катализирует деградацию инулина – конкурента синтеза НК. Альтернативным вариантом является нокдаун гена фруктан 1-фруктозилтрансферазы (*1-FFT*), вовлеченного в биосинтез инулина, что позволит удвоить синтез НК в кок-сагызе. Мы предлагаем методом редактирования генома улучшить качества НК у одного из растений рода *Helianthus* (системой CRISPR/Cas), заменив их гены синтеза НК на гены бразильской гевеи. Для этого наши коллаборатоы из Южной Кореи клонировали для нас три ключевых гена биосинтеза каучука: *CPT I*, кодирующего фермент цис-пренилтрансферазу, *SRPP* (small rubber particle protein) и *REF* (rubber elongation factor) для улучшения качества и количества НК в каучуконосах произрастающих в средней полосе РФ.
Выводы: Поводя итог, мы приходим к необходимости создания технологий, биотехнологического улучшения продуктивности и качества НК у одного из видов рода *Helianthus* и кок-сагыза методом генетических технологий. В лаборатории редактирования генома сельскохозяйственных растений ИОГен РАН была проведена генетическая трансформация кок-сагыза и получены растения устойчивые к гербициду Раундап. Нами созданы 2 метода генетической трансформации подсолнечника (баллистический и агробактериальный).
Патент № 2179187 «Способ получения трансгенных растений подсолнечника», 2000 г.
Патент № 2193066 «Баллистический способ получения трансгенных растений подсолнечника (*Helianthus annuus* L.)»
Финансирование: Исследование поддержано № 1022061700236-4-1.6.8.

doi 10.18699/PlantGen-2025-219

Молекулярно-генетический анализ мутации безантоциановости *vi3* у ржи

Н.В. Цветкова[1]*, А.Н. Буланов[2], С.Б. Нопимбонг Нипимбо[1], П.А. Зыкин[1], А.В. Евстигнеева[2], Г.Д. Решетникова[1], Е.А. Андреева[1, 2], А.В. Войлоков[2]

[1] *Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

[2] *Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Санкт-Петербургский филиал, Санкт-Петербург, Россия*

* *n.tswetkowa@spbu.ru*

Цель: Широкий спектр окраски вегетативных и генеративных органов растений от розового до красного и фиолетового обеспечивают флавоноидные пигменты – антоцианы. Известно, что растения с антоцианами обладают адаптивным преимуществом, они более устойчивы к биотическим и абиотическим стрессам. В биосинтезе антоцианов принимают участие более десяти ферментов, а гены, кодирующие их структуру в геноме ржи представлены многими копиями (Rabanus-Wallace et al., 2021). Для проведения исследований, направленных на установление биологической функции этих генов, важным инструментом является использование мутантных форм. Генетическую природу признаков, связанных с антоциановой окраской различных органов у ржи *Secale cereale* L., в нашей стране начали изучать в середине 1950-х годов под руководством В. С. Федорова в Ленинградском университете (Смирнов, Соснихина, 1984). В настоящее время в Петергофской генетической коллекции, созданной им и его коллегами, представлены инбредные линии ржи мутантные по пяти разным генам биосинтеза антоцианов, характеризующиеся отсутствием антоцианов на всем растении, включая колеоптиль, окраска которого у ржи является индикаторной (Войлоков, Лыхолай, Смирнов, 2014). Одним из генов безантоциановости является ген *vi3*, картированный нами в длинном плече хромосомы 3R в ортологичном положении генам пшеницы и ячменя, контролирующим структуру дигидрофлавонол-4-редуктазы (DFR). Целью настоящей работы являлось установление молекулярной структуры и функции гена *Vi3* у ржи.

Материалы и методы: Для проведения гибридологического анализа созданы две картирующие популяции ржи от скрещивания инбредных линий ржи с контрастным проявлением антоциановой окраски. Растения линии vi3 характеризуются отсутствием антоциановой окраски на всех частях растения в процессе онтогенеза. Линии L7 и RMu12 характеризуются наличием окраски на растении (колеоптиле, узлах, чешуях колоса). Фенотипирование растений $F_{2:3}$ проводили, оценивая окраску колеоптиля у десятидневных проростков, и подтверждали учетом антоциановой окраски у взрослых растений. Для секвенирования кодирующей последовательности гена *DFR* подобраны праймеры на основе референсного генома ржи Rye_Lo7_2018_v1p1p1 (Rabanus-Wallace et al., 2021), размещенного в базе NCBI (GenBankGCA_902687465.1) с использованием программ Primer-BLAST, OligoCalc и Multiple Primer Analyzer.

Результаты: Секвенирование кодирующей области гена *DFR* у трех инбредных линий vi3, L7 и Rmu12 позволило установить ее консервативность за исключением инсерции в 8 п.н. в третьем экзоне у безантоцианновой линии vi3. Сопоставление амплифицированной последовательности гена *DFR* линии vi3 с интрон-экзонной структурой этого гена в базе NCBI показало, что данная инсерция находится в третьем экзоне и приводит к мутации типа «сдвига рамки считывания», вследствие чего появляется преждевременный стоп-кодон TGA через 3 нуклеотида после инсерции. Наличие инсерции позволило нам разработать внутригенный кодоминантный InDel-маркер гена *DFR* – ScDFR-Ins. При анализе совместного расщепления по окраске колеоптиля у 209 растений межлинейного гибрида (vi3xRMu12) и 116 растений комбинации (L7x vi3) была установлена косегрегация разработанного маркера и антоциановой окраски растения.

Выводы: Данные по косегрегации маркера гена *DFR* и мутации безантоцианновости *vi3* у двух межлинейных гибридов ржи позволяют сделать вывод о том, что молекулярной функцией гена *Vi3* является кодирование структуры фермента дигидрофлавонол-4-редуктазы.

Финансирование: Работа выполнена при поддержке СПбГУ, шифр проекта 124032000041-1.

doi 10.18699/PlantGen-2025-220

Наноплатформа для доставки микроРНК на основе экзосом *Nicotiana tabacum*

Ж.Л. Цыденешиева[1, 2]*, Ю.Н. Шкрыль[2], Т.Ю. Горпенченко[2]
[1] *Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия*
[2] *ФНЦ Биоразнообразия Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, Россия*
** zargalma2509@gmail.com*

Цель: Изучение способности экзосом из растения *Nicotiana tabacum* к таргетной доставке микроРНК (antimirGFP) в клетки трансгенного растения *N. tabacum*, экспрессирующего флюоресцентный белок – GFP.
Материалы и методы: Трансгенные растения получали методом Floral-dip. Экзосомы выделяли из апопластической жидкости листьев растения *N. tabacum* методом дифференциального ультрацентрифугирования. Визуализировали экзосомы, а также измереняли уровень флюоресценции с помощью метода сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). Концентрацию экзосом, а также гидродинамический диаметр измеряли с помощью анализа траектории движения наночастиц (NTA). Экспрессию генов измеряли методом количественной ПЦР в реальном времени.
Результаты: Выделили экзосомы из растения *Nicotiana tabacum* дикого типа (ТЭВ), а также из трансгенного *N. tabacum*, экспрессирующего антимирРНК к гену GFP (ТФЭВ). По результатам СЭМ оба типа экзосом имели округлую везикулярную форму, средний размер варьировался от 90 до 150 нм. Концентрация экзосом в среднем составила $2{,}2\times10^{11}$ для ТЭВ и $3{,}6\times10^{11}$ частиц/мл для ТФЭВ. Поглощение растительных экзосом клетками-мишенями имеет решающее значение для эффективной доставки лекарств и терапевтических средств. Для этого мы обработали протопласты, полученные из растений табака экзосомами ТФЭВ, меченными флуоресцентным красителем. Конфокальная микроскопия показала, что экзосомы интернализовались в протопласты в течение 1 часа после инкубации, что свидетельствует об их эффективном поглощении растительными клетками.
Для оценки снижения флюоресценции, опосредованной экзосомами, использовали протопласты трансгенных растений с геном GFP. Протопласты обрабатывали экзосомами, полученными из трансгенных растений, содержащих амиРНК, нацеленные на GFP (ТФЭВ). Экзосомы, выделенные из нетрансгенных растений (ТЭВ), служили контролем. В протопластах, обработанных ТФЭВ, наблюдалось снижение интенсивности флуоресценции GFP, что было подтверждено с помощью конфокальной микроскопии. Таким образом, обработка трансгенных протопластов ТФЭВ приводила к динамической модуляции флуоресценции GFP во времени. Эти результаты подчеркивают потенциал экзосом растительного происхождения в качестве векторов для доставки РНК и глушения генов в растительных клетках.
Чтобы оценить эффективность сконструированных антимирРНК в подавлении экспрессии GFP в растении, мы провели серию экспериментов с использованием листьев растений табака, экспрессирующих GFP. Листья инфильтровали физиологическим буфером с двумя типами экзосом ТЭФ и ТФЭВ. Результаты сканирующей электронной микроскопии согласуются с результатами эксперимента на протопластах. Происходило снижение флюоресценции GFP уже через 1 час после инфильтрации, продолжающее на протяжении 3 часов. Затем, как и в предыдущем эксперименте, происходило восстановление флюоресценции.
Выводы: Данное исследование представляет собой первую демонстрацию использования биоинженерных экзосом растений в качестве систем таргетной доставки атимирРНК, предлагая новый и эффективный метод подавления экспрессии генов в растениях. Способность точно воздействовать на определенные гены с помощью микроРНК, доставляемых экзосомами, имеет важное значение для биотехнологии растений, особенно для выведения культур с повышенной устойчивостью к стрессам, болезням и повышенной урожайностью. Более того, использование экзосом растительного происхождения в качестве естественных носителей генетического материала представляет собой устойчивую и биосовместимую альтернативу традиционным методам доставки генов. Будущие исследования могут способствовать широкому применению этой технологии в сельском хозяйстве, функциональной геномике и растительной терапии, тем самым откроет путь к новым стратегиям выращивания сельскохозяйственных культур.

doi 10.18699/PlantGen-2025-221

Гормональная регуляция клеточной динамики в корневом чехлике *Arabidopsis thaliana* L.

В. Черенко[1, 2]*, К. Хаскин[2], А. Сидоренко[1], З. Багаутдинова[1], Д. Азарова[1], В. Лавреха[1, 2], Н. Омельянчук[1], Е. Землянская[1, 2]

[1] *Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия*
[2] *Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия*
* *cherenkova@bionet.nsc.ru*

Цель: Координация процессов деления и дифференцировки клеток лежит в основе функционирования меристем. Понимание механизмов, обеспечивающих эту координацию, является фундаментальной задачей биологии развития растений. Удобным объектом для исследования этих механизмов является апикальная меристема корня *Arabidopsis thaliana*, так как она имеет простую упорядоченную структуру, а клональность ее клеток легко прослеживается по их взаимному расположению. Дистальная часть апикальной меристемы корня представлена одним слоем стволовых клеток (инициалей) и дает начало апикально расположенному корневому чехлику (КЧ). Несмотря на постоянный приток новых клеток за счет деления инициалей размер КЧ не меняется, так как терминальной стадией дифференцировки его клеток является их слущивание с поверхности корня в почву (такие клетки называют пограничными), а скорость слущивания пограничных клеток равна скорости деления инициалей. Существует гипотеза, что градиент концентрации фитогормона ауксина в колумелле (центральной части КЧ) координирует деление инициалей и слущивание пограничных клеток, однако до сих пор эта гипотеза исследована недостаточно. Неясно также, могут ли играть координационную роль другие фитогормоны (например, этилен) способные по некоторым данным влиять на деление/слущивание клеток в корневом чехлике. Таким образом, целью данной работы является подробное исследование влияния ауксина и этилена на клеточную динамику в корневом чехлике *A. thaliana*.

Материалы и методы: Для оценки скоростей деления и слущивания клеток в КЧ измеряли легко детектируемые структурные параметры КЧ *A. thaliana*: количество отделившихся клеточных слоев, количество клеточных слоев без признаков слущивания и общее количество клеточных слоев. Измерения проводили на основе анализа двух типов микроизображений: первые получали путем микроскопии в проходящем свете без переноса проростка с твердой питательной среды, вторые – путем конфокальной микроскопии.

Результаты: Разработана методика для полуколичественного описания динамики деления и слущивания клеток в корневом чехлике *A. thaliana*, продемонстрирована корректность получаемых с ее помощью оценок. С использованием разработанной методики показано, что обработка ауксином (индол-3-уксусной кислотой; ИУК), а также его сверхпродукция приводят к замедлению делений и слущивания клеток, не нарушая при этом скоординированности этих процессов. Блокировка сигнального пути этилена, напротив, приводит к нарушению координации между делениями и слущиванием; более того, на фоне дисфункции сигнального пути этилена обработка ауксином приводит к несоразмерному изменению скоростей деления и слущивания.

Выводы: Результаты исследования свидетельствуют о том, что этилен во взаимосвязи с ауксином может участвовать в координации деления и слущивания клеток в корневом чехлике.

doi 10.18699/PlantGen-2025-222

Фенотипирование как метод комплексной оценки функционального назначения овса (*Avena sativa* L.) различного эколого-географического происхождения в условиях юга Тюменской области

А.В. Черепанов*, Н.А. Боме, Н.Н. Колоколова, Д.А. Базюк, А.А. Белозерова
Школа естественных наук Тюменского государственного университета, Тюмень, Россия
** tt.zf.ne.cherepanov.a.v@gmail.com*

Введение: Овес посевной (*Avena sativa* L.) – ценная сельскохозяйственная культура комплексного назначения: крупяное, зернофуражное, кормовое. Овес используется как сидерат для улучшения структуры, физических свойств и химического состава почвы. Фенотипирование в полевом исследовании – это перспективный метод селекционной оценки и определения функционального назначения генотипов различных культур, в том числе овса, по комплексу морфофизиологических признаков, биохимических качеств и технических свойств.

Цель: Комплексная полевая оценка образцов овса посевного (*A. sativa* L.) различного эколого-географического происхождения и определение возможного функционального назначения в условиях юга Тюменской области.

Материалы и методы: Агроклиматические зоны юга Тюменской области отличаются контрастностью почвенно-климатических условий. Комплексная оценка образцов овса посевного проводилась в 2024 году на экспериментальном участке, расположенном в зоне северной лесостепи на серой лесной почве (pH–8,0). Гидротермический коэффициент (по Г.Т. Селянинову) в период вегетации «июнь–август» – 1,2 (умеренное увлажнение). Полевое исследование реализовывалось согласно методическим указаниям по изучению и сохранению мировой коллекции ячменя и овса (ВИР им. Н.И. Вавилова). Обработка и анализ экспериментальных данных выполнены по общепринятым методикам с использованием Microsoft Excel и Statistica 6.0 (США). Приборы, используемые для полевых наблюдений и измерений: «SPAD-502 Plus» (Япония) – содержание хлорофилла в листьях, «AccuPAR LP-80» (США) – уровень фотосинтетически активной радиации, метеостанция «Amtast AW006» (США) – погодные условия в период вегетации. Объект исследования – 33 образца овса посевного различного эколого-географического происхождения. Основные признаки фенотипирования: высота растения, линейные параметры флагового листа, биомасса отдельных органов растения, содержание хлорофилла в листьях, а также элементы структуры урожая (продуктивная кустистость, масса зерна с метелки, урожайность, масса 1000 семян). Исследуемые образцы сравнивались с районированными сортами по Тюменской области (пленчатый – Мегион, k-14039; голозерный – Тюменский голозерный, k-14784).

Результаты: Полевая оценка овса посевного позволила определить преимущественное функциональное назначение каждого из исследуемых образцов. Фуражное использование образцов определялось по достоверно значимым различиям с контролем по признакам: высота, линейные параметры листа, динамика хлорофилла в онтогенезе, сырая биомасса в фенофазу «выметывание». Образцы, выделенные по отдельным признакам: Kuerle (Китай, k-15148), Местный (Тунис, k-15251), Canyon (Германия, k-15375), три образца из Болгарии (97106126, k-15203; 97106143, k-15206; 96106141, k-15203), имеют удлиненный период созревания (позднеспелые), благодаря высокой общей кустистости (2,5–3,0) и меньшей доли усыхания сырой биомассы (43,9–67,9%). Крупяное назначение овса определялось по наличию достоверно значимых различий с контролем по признакам: выживаемость растений в период вегетации, продуктивная кустистость, масса зерна с метелки и масса 1000 семян. Образцы Kanton (Германия, k-15190), KWS Contender (Германия, k-15376), Соло (Украина, k-15285) и Иртыш 34 (Россия) выделены по показателям высокой выживаемости (78,0–96,1%), продуктивной кустистости (1,4–1,8), массы 1000 семян (37,3–52,4 г) и урожайности (187,4–377,4 г/м^2). Образцы, имеющие умеренно высокие показатели по большинству морфологических признаков растения и элементам структуры урожая, отнесены к зернофуражному функциональному назначению: Typhoon (Германия, k-15378) и Scorpion (Германия, k-15377) – оптимальное сочетание сырой и сухой биомассы; Envis (Великобритания, k-15243) и Джигит (Россия) – высокие показатели по элементам структуры урожая.

Выводы: Полевое исследование фенотипических особенностей овса посевного (*A. sativa* L.) по признакам разных категорий с учетом их динамики по фенологическим фазам вегетации – важнейшее условие отбора перспективных генотипов. Распределение сортов и селекционных образцов овса посевного на группы по функциональной направленности достигается сочетанием лабораторной оценки устойчивости к неблагоприятным факторам среды и полевого испытания в различных почвенно-климатических и метеорологических условиях. Отбор многофункциональных образцов овса посевного требует исследования биологических, биохимических и технических свойств зерна и биомассы растений.

doi 10.18699/PlantGen-2025-223

Маркер-контролируемое получение и характеристика гибридных форм пшеницы с окрашенным зерном

Е.В. Чуманова*, Т.Т. Ефремова, К.В. Соболев, Е.А. Косяева
Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
** chumanova@bionet.nsc.ru*

Цель: Маркер-контролируемое получение новых генотипов с фиолетовой и черной окраской зерна с участием районированных сортов Новосибирская 31 (Н31), Сибирская 21 (Сиб21), Лидер 80 (Л80) и гексаплоидной пшеницы *T. petropavlovskyi* и проведение количественной оценки содержания антоцианов (АЦ), фенольных соединений (ФС), показателей антиоксидантной активности (АОА) и продуктивности полученных гибридных форм.

Материалы и методы: Получено шесть гибридных популяций от скрещивания линий сорта Саратовская 29 (S29): i:S29*Pp-D1Pp3*^{PF} (S29PF) с фиолетовой (Arbuzova et al., 1998) и s:S294E(4B) × i:S29*Pp-D1Pp3*^{PF} (S29BW2) с черной окраской зерна (Efremova et al., 2023) с сортами Н31, Сиб21 и Л80. Кроме того, выделены девять линий с фиолетовой и черной окраской зерна, полученных от скрещивания S29BW4 (s:S294E(4B) × i:S29*Pp-D1Pp3*^{PF}) с образцом *T. petropavlovskyi* к-44126 (ВИР). Выделение гомозигот с фиолетовой и черной окраской зерна в гибридных популяциях F_2 проводилось с использованием ПЦР-маркеров к генам биосинтеза АЦ: Pp1-diagnostic и Pp3-diagnostic, ThMYC4ESp и SSR-маркеров Xgwm0375 (хромосома 4B) и Xgwm0111 (хромосома 7D). Оценка суммарного содержания АЦ проводилась согласно методике (Abdel-Aal, Hucl, 1999), общее содержание ФС определяли аналогично работе (Kukoeva et al., 2024), а АОА – с использованием метода ABTS (Kumari et al., 2020). Также проводили определение показателей продуктивности главного колоса и растения. Значимость различий между средними значениями оценивалась с использованием критерия Тьюки.

Результаты: Во всех гибридных комбинациях F_2 были выделены гомозиготные растения с фиолетовой окраской перикарпа, несущие фрагменты амплификации *Pp-D1* и *Pp3*. При этом оказалось, что сорта Сиб21 и Л80 несут *Pp-D1*, что облегчило задачу отбора целевых генотипов. В случае Н31 гомозиготность по *Pp-D1* устанавливали с использованием Xgwm0111 при наличии только одного фрагмента, унаследованного от S29PF. Кроме того, были выделены гомозиготные растения с черной окраской зерна, обусловленной сочетанием накопления АЦ в перикарпе и алейроновом слое, у которых дополнительно присутствовал фрагмент амплификации ThMYC4ESp в отсутствие ПЦР-продукта Xgwm0375.

Все растения F_3 с окрашенным зерном по содержанию АЦ, ФС и показателям АОА значимо превосходили родительские сорта. Метанольные экстракты растений с черным зерном в среднем характеризовались более высоким содержанием АЦ и ФС и, как следствие, антиоксидантным потенциалом относительно фиолетовозерных, в особенности это касается гибридов на основе Л80. Однако в популяциях, полученных с участием Н31 и Л80 выделены фиолетовозерные генотипы, не уступающие по содержанию ФС и АОА растениям с черным зерном.

Растения с черной окраской зерна характеризовались более длинным колосом и большим числом колосков – признаками, унаследованными от родительской линии S29BW2, по сравнению с фиолетовозерными генотипами, а также большим числом зерен, за исключением гибридов, полученных с участием Л80. Максимальное число и масса зерен в колосе наблюдались как у гибридов с черной, так и с фиолетовой окраской зерна, полученных на основе сорта Сиб21. Однако последние уступали по содержанию биоактивных соединений растениям, полученным на основе сортов Н31 и Л80. Кроме того, гибриды с черным зерном на основе Сиб21 превышали показатели S29BW4 по числу и массе зерен в колосе ($p<0.05$).

С использованием ДНК-маркеров выделены гомозиготные растения с фиолетовой и черной окраской зерна в потомстве от скрещивания S29BW4 × *T. petropavlovskyi* к-44126 (ВИР). В F4 были отобраны девять линий – три с черным и шесть с фиолетовым зерном, которые характеризовались рыхлым колосом с меньшим числом колосков и зерен по сравнению с S29BW4. Однако, несмотря на это, у Л1 и Л2 с черной и Л7-Л9 со светло-фиолетовой зерновкой масса зерна с колоса и растения в 1.3–2.1 раза превысила показатели S29BW4 за счет большего числа колосьев с растения (достигающего 4.2–5.6) и в особенности более крупной зерновки по сравнению с S29BW4. Значительное увеличение массы зерновки наблюдалось у всех линий, с фиолетовым зерном (до 46.7–58.4 мг), причем более крупная удлиненная зерновка, как у *T. petropavlovskyi*, массой 53–59 мг сочеталась со светло-фиолетовой окраской. Наиболее высоким содержанием антоцианов характеризовались Л1 и Л2, а среди фиолетовозерных выделялась Л7, не уступающая линиям с темно-фиолетовой окраской по содержанию АЦ, ФС и показателям АОА, но отличающаяся более высокой продуктивностью. Наиболее перспективные генотипы могут послужить исходным материалом для получения сортов мягкой пшеницы с повышенным содержанием биологически активных компонентов в зерне для условий Западной Сибири.

Финансирование: Работа поддержана РНФ (№ 24-26-20028) и Министерством науки и инновационной политики Новосибирской области (№ р-99), https://rscf.ru/project/24-26-20028.

doi 10.18699/PlantGen-2025-224

Разработка KASP маркеров для генов, вовлеченных в формирование адаптивной реакции у ели европейской

В.В. Шаршавикова*, В.А. Волков, Д.С. Каржаев, Е.Д. Сафронычева, М.В. Тис, К.В. Чухланцева
Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт лесного хозяйства, Санкт-Петербург, Россия
** VeronikaSharshavikova@gmail.ru*

Цель: Разработка функциональных молекулярных маркеров для генов, вовлеченных в формирование важнейших приспособительных признаков ели, для их дальнейшего использования при оценке адаптационного потенциала посадочного материала.
Материалы и методы: По результатам анализа литературы было выделено 4 основных гена-кандидата: CRY1, PhyO, BTL3, HK5. Точечные мутации в этих генах напрямую влияют на адаптацию растения к условиям произрастания. Частота встречаемости разных аллелей выбранных генов в естественных популяциях меняется с севера на юг, в других случаях их влияние на адаптацию к различным широтам доказана экспериментально. Это дает основания полагать, что селекция по данным локусам будет эффективна при отборе посадочного материала при планировании плантаций или лесовосстановительных работ в различных регионах РФ. Основываясь на последовательностях этих генов, были разработаны KASP маркеры, позволяющие различить ключевые мутации, связанные с адаптацией к фотопериоду.
Результаты: В результате апробации на тестовых выборках и оптимизации протоколов амплификации были получены уникальные для каждого маркера алгоритмы, позволяющие точно определить вариант аллеля у образцов. Результаты программной обработки KASP представляют собой график, состоящий из кластеров точек различного цвета и формы. Такой скрининг доступен во всех лабораториях, оснащенных амплификаторами с функцией реал тайм. Поскольку генотип в большей степени влияет на фенотип, такой скрининг позволит определить потенциальную устойчивость посадочного материала к тем или иным условиям произрастания. Так как праймеры разработаны на гены, связанные с адаптацией, селекция посадочного материала с использованием разработанных маркеров позволит подобрать саженцы, наиболее приспособленные к росту в условиях определенного светового периода.
Выводы: Разработанные молекулярные маркеры на основе KASP-технологии позволяют проводить эффективный скрининг аллелей, связанных с адаптивными признаками ели, что открывает широкие перспективы для использования их в лесной селекции и при мониторинге популяций. Эти маркеры могут использоваться для оценки адаптивного потенциала лесного генетического материала, обеспечивая лесовосстановительные программы генетически приспособленным посадочным материалом. Таким образом, подбор посадочного материала может влиять на успешность лесовосстановительных мероприятий и целевое лесовыращивание на плантациях. В условиях меняющегося климата подобные подходы могут значительно повысить устойчивость лесных экосистем к экологическим стрессам и способствовать восстановлению лесов с учетом изменения климата.
Финансирование: Исследование выполнено в рамках государственного задания Санкт-Петербургского научно-исследовательского института лесного хозяйства № 053-00005-25-00 от 26.12.2024.

doi 10.18699/PlantGen-2025-225

Источники эффективных генов хозяйственно ценных признаков для маркер-ориентированной селекции мягкой яровой, озимой и многолетней пшеницы в условиях Западной Сибири

С.С. Шепелев*, И.В. Потоцкая, А.С. Чурсин, В.Е. Пожерукова, А.Н. Айдаров, С.А. Ессе, А.М. Ковальчук, И.В. Безукладов, А.О. Вернер, А.О. Виноградова, А.С. Карелова, Р.Д. Сулейманов, В.П. Шаманин

ФГБОУ ВО Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина, Омск, Россия

** ss.shepelev@omgau.org*

Одной из национальных целей развития в сфере АПК является обеспечение продовольственной безопасности и расширение экспортного потенциала нашей страны. Получение генофонда яровой, озимой и многолетней пшеницы необходимо для создания сортов продовольственной пшеницы с повышенной урожайностью и адаптивностью, в том числе для экспортного рынка зерна. **Цель:** Поиск генетических источников хозяйственно ценных признаков с использованием молекулярно-генетических подходов в селекции пшеницы в условиях Западной Сибири. **Материалы и методы:** На опытном поле Омского ГАУ в 2022–2024 г. изучены коллекции 150 сортов из международной программы России и Казахстана, созданных за период с 2000 по 2020 г. (ОН-КАСИБ), 100 стародавних сортов пшеницы; 96 сортообразцов озимой пшеницы разного географического происхождения; 20 образцов многолетней пшеницы из разных стран мира (США, Австралия, Европа) созданных скрещиванием мягкой пшеницы с видами пырея *Th. ponticum*, *Th. elongatum*, *Th. intermedium*. Полевые и лабораторные исследования проведены по общепринятым методикам. Выполнен анализ ассоциаций маркер-признак (МТА) с использованием мультилокусной модели GWAS – BLINK по 89 хозяйственно ценным признакам для поиска генов-кандидатов, имеющих высокий достоверный эффект на экспрессию хозяйственно ценных признаков в коллекции стародавней пшеницы и сортов питомника ОН-КАСИБ. Обе коллекции генотипированы на платформе Affymetrix 25K (Германия, www.traitgenetics.de). Коллекция озимой пшеницы генотипирована с использованием 50 KASP-маркеров в Институте биологии и биотехнологии растений (Казахстан).

Результаты: По результатам ассоциированного картирования для выделенных SNP локусов подобраны KASP-маркеры. Сравнительный анализ стародавних и современных сортов пшеницы показал, что в процессе селекции давление отбора было направлено, прежде всего, на признаки, связанные с увеличением урожайности. Выделено 26 KASP-маркеров, ассоциированных с несколькими группами взаимосвязанных признаков. Наибольшую селекционную ценность имеют SNP-локусы SNPTA005766-0499, AX-94662379, оказывающие положительный эффект на комплекс агрономических признаков, которые были изучены в этом исследовании. Ключевым преимуществом стародавних сортов пшеницы над современными сортами является повышенное накопление белка и клейковины в зерне. Выделено 8 SNPs, имеющих значимые ассоциации с содержанием белка и клейковины в зерне. Аллельные варианты, идентифицированные у стародавней пшеницы, повышают содержание белка и клейковины в зерне, но снижают продуктивность растения. Выделены три SNPs, оказывающие наименьший отрицательный эффект на урожайность: Tdurum_contig41931_480, TA001900-1836, AX-110992521. На основании результатов фенотипической оценки в течение трех вегетационных сезонов выделены стабильные QTLs, связанные с признаками урожайности и ее компонентами в международной коллекции озимой пшеницы: wsnp_RFL_Contig3269_3313084 (5D), CAP7_rep_c13246_103 (6A), Excalibur_c24303_1145 (1A), Tdurum_contig17378_154 (4A), которые могут быть использованы в маркер-ориентированной селекции для улучшения урожайности озимой пшеницы. Сорта Жива, Золушка, Донеко, Линия К 18918, Линия 2293 К 2-4 (Россия); CO13D1299, KS13DH0030-32 (США), Gondvana // HBK0935-29-15 / KS90W077-2-2 / VBF0589-1… (Türkiye-CIMMYT-ICARDA) как носители благоприятных гаплотипов, рекомендуются для включения в программы гибридизации с целью расширения генетического разнообразия при создании высокоурожайных сортов озимой мягкой пшеницы в условиях Западной Сибири. Изучена международная коллекция многолетней пшеницы CIMMYT. По зимостойкости выделены образцы Отрастающая 38 (Wheat / *Th. intermedium*, Россия) – средняя зимостойкость за 3 года составила 90%, 235A (Madsen // ChineseSpring / *Th. elongatum*, США) – 78%, что существенно выше по сравнению со стандартным сортом озимой пшеницы Омская 4 (средняя зимостойкость 64%). Образцы коллекции многолетней пшеницы представляют значительную ценность в качестве источников высокого содержания белка и клейковины в зерне. В среднем за 3 года у изученных образцов содержание белка варьировало от 19,3% (образец 235A) до 21,2% (Отрастающая 38), превысив по данному показателю стандарт Омская 4 (14,7%). Среднее содержание сырой клейковины в зерне образцов многолетней пшеницы варьировало от 41,0% (образец 235A) до 47,6% (Отрастающая 38), у стандарта озимой пшеницы Омская 4 этот показатель равен 28,1%. Выделенные образцы многолетней пшеницы включены в гибридизацию в качестве источников зимостойкости в селекционные программы по озимой пшенице.

Финансирование: Исследования поддержаны Российским научным фонда (соглашение № 23-16-20006 от 20.04.2023 г.; соглашение № 25-16-20042, https://rscf.ru/contests), Министерством сельского хозяйства РФ.

doi 10.18699/PlantGen-2025-226

Молекулярно-генетическая идентификация тетраплоидных форм озимой ржи (*Secale cereale* L.) по генам *Rfp* для использования в селекции

В.Е. Шимко[1]*, И.С. Гордей[1], О.М. Люсиков[1], В.С. Мандрусова[1], О.С. Матиевская[1], С.И. Гордей[2], Д.Ю. Артюх[2], Э.П. Урбан[2]

[1] *Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

[2] *РУП «Научно практический центр НАНБ по земледелию», Жодино, Республика Беларусь*

* *Shymko@mail.ru*

Основной проблемой тетраплоидной ржи является ее пониженная, в сравнении с диплоидной, озерненность колоса (на 10–20%). Ген *Rfp1*, являющийся основой системы Pollen Plus, в последние годы активно используется в странах Западной Европы в качестве сильного восстановителя фертильности при создании высокоозерненных гибридных сортов ржи. Мы создали тетраплоидные формы на основе диплоидных гибридов KWS, которые, по данным этой фирмы, имеют ген *Rfp1*. Оказалось, что созданные на основе этого гена тетраплоиды по фенотипу кардинально отличаются от тетраплоидов без него: более мелкие вегетативные органы, сизый окрас, более плотный стеблестой, и являются более скороспелыми, то есть фенотипически сходны с диплоидами. Аналогичный эффект был описан Miedaner (2022 г.) у гибридной ржи и авторы полагают, что это связано с геном *Rfp1*. Поскольку созданные тетраплоиды по ряду признаков имеют сходство с диплоидами, то, по нашему мнению, можно ожидать у них формирования более мелкой и летучей диплоидоподобной пыльцы. Это благоприятно скажется на озерненности их колоса и устойчивости к спорынье, а тетраплоидный уровень будет способствовать повышенной массе 1000 зерен, что значительно повысит ценность новых тетраплоидов. Представляет интерес установление связи вышеописанного морфотипа с геном *Rfp1* с использованием ДНК-маркеров, поскольку на данный момент неизвестно, это плейотропный эффект данного гена или эффект сцепленных с ним других генов.

Цель: Провести типирование тетраплоидных форм ржи по гену *Rfp1* с использованием специфичных к нему ДНК-маркеров для установления связи между этим геном и изменением морфотипа.

Материалы и методы: Объектом исследований являлись тетраплоидные формы, полученные закисью азота на основе 4 диплоидных гибридов и 2 сортов с предполагаемым наличием гена *Rfp1*: F_1 Bono, F_1 Kassani, F_1 Serafino, F_1 Venetto, Голубка и Даньковский Туркус. Голубка и Даньковский Туркус на тетраплоидном уровне имели вышеописанный морфотип, в связи с чем мы их также включили в исследование. В качестве контроля использовали тетраплодиные сорта ржи Камея-16 и Пламя, тетраплоидные линии «Мейотическая» и Л26, диплоидные линии МС53/51 и ЗС53/51, у которых не предполагалось наличия гена *Rfp1* согласно их родословной и морфотипу. Для типирования использовали специфические к данному гену кодоминантные молекулярные маркеры P20, ctg2, TC256739, разработанные P. Wilde (2017) и B. Hackauf (2012) на основе ПЦР и расположенные на расстоянии 0,093, 0,2 и 0,3 сМ от гена соответственно. Анализировали по 10 растений каждого образца.

Результаты: Последовательность P20 с частотой 50–100% детектировалась как у созданных тетраплоидов, так и у контрольной тетраплоидной линии «Мейотическая». Также P20 был выявлен и у контрольных диплоидных линий МС53/51 и ЗС53/51 с частотой 100%. P20 не был выявлен только у контрольной тетраплоидной линии Л26. Последовательность ctg2 с частотой 40-100% определялась у трех созданных тетраплоидов Bono, Даньковский Туркус и Голубка, а у Kassani, Serafino и Venetto отсутствовала. При этом маркер ctg2 был выявлен у всех контрольных тетраплоидных линий и сортов с частотой 70–100%, а также у контрольных диплоидных линий МС53/51 и ЗС53/51 с частотой 20–50%.

Последовательность TC256739 с частотой 50–100% детектировалась у всех созданных тетраплоидов. Также она определялась у контрольных тетраплоидных сортов Пламя и Камея-16 с частотой 75–100% и диплоидных линий МС53/51 и ЗС53/51 с частотой 60–100%. У контрольных тераплоидных линий последовательность TC256739 не детектировалась.

Выводы: Полученные нами результаты оказались неожиданными. Маркерные последовательности P20, ctg2 и TC256739, связанные с геном *Rfp1*, детектировались как у созданных на основе этого гена тетраплоидов, так и у контрольных тетраплоидов и диплоидов, у которых наличия этого гена не предполагалось. Таким образом, с использованием данных маркеров нами не выявлено связи гена *Rfp1* с изменением морфотипа тетраплоидной ржи.

Финансирование: Исследование поддержано ГП «Научно-инновационная деятельность НАН Беларуси», подпрограмма 3 «Изучение, идентификация и рациональное использование коллекций генетических ресурсов растений на 2021–2025 годы», договор № 2024-28-251.

doi 10.18699/PlantGen-2025-227

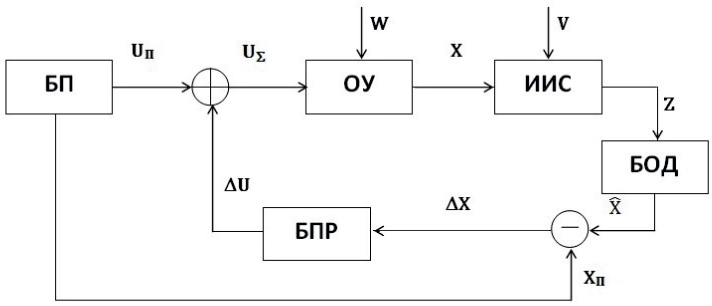
Создание высокоструктурированных баз данных и знаний для задач моделирования, анализа, интерпретации на основе омиксных данных растений

А.Г. Шлихт*, Н.В. Краморенко
Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия
** schliht@mail.ru*

Цель: Создание высокоструктурированных баз данных (БД) и баз знаний (БЗ) для создания глубоких экспертных систем в структурно-кибернетической модели объектов управления, информационно-измерительных систем, диагностики и оценки текущего состояния объектов управления, интерпретации отклонений в различных омиках и последующей поддержки принятия решений в цепи обратной связи, в частности для достижения оптимального сбалансированного рациона.

Материалы и методы: Реализация моделей данных и знаний осуществляется на основе реляционных БД, доступ к которым осуществляется на основе объектно-реляционной модели языков высокого уровня, что позволяет организовать эффективный интерфейс как для периодической актуализации данных, так и доступ на основе классических сайтов. В основу оптимизации положены глубоко модифицированные методы линейного программирования, позволяющие вводить самые различные ограничения в модели данных, достигая при этом реальных, а не гипертрофированных рационов, как в классической задаче о диете. Широко используются методы теории динамических систем (ТДС).

Результаты: Разработан комплекс БД и БЗ, геномики, транскриптомики, экзомики, протеомики, метаболомики, реактомики, на основе которых эффективно создаются экспертные системы планирования, мониторинга, управления, диагностики и оценки состояния, анализа и интерпретации омиксных данных. На основе ТДС решены фундаментальные задачи наблюдаемости, управляемости и достижимости различных рационов, опираясь на БД и БЗ организмов. Интеллектуальная информационная система построена на основе глубоких классических продукционных экспертных систем (ЭС), что позволяет дать полное объяснение предлагаемых решений (в отличие от нейронных сетей, выступающих как «черный ящик» и принципиально не имеющих системы объяснений). Успехи в области биохимии требуют привлечения современных достижений теории динамических систем. В частности, многомерные биохимические процессы эффективно вписываются в метод пространства состояний (МПС). МПС позволяет поставить качественно новые подходы к динамике биохимических процессов, решая задачи управляемости, наблюдаемости, достижимости требуемого состояния в живом организме. Определяющей здесь становится системно-кибернетическая модель (рисунок), основными объектами которой являются объект управления (ОУ), информационно-измерительная система (ИИС), наблюдающее устройство, или фильтр Калмана (ФК), блок сравнения (БС) и регулятор в цепи обратной связи (Р).



БП – блок планирования формирующий нормативные требования к управляемым объектам и процессам ($U_П, X_П$)
ОУ – объект или процесс управления с векторами управления, состояния и возмущения ($U_Σ, X, W$)
ИИС – информационно-измерительная система с векторами измерения и ошибок измерения (Z, V)
БОД – блок оценивания и диагностирования с вектором оценки состояния ($\hat{X}$)
БС – блок сравнения оценки текущего состояния и плана ($\Delta X = \hat{X} - X_П$)
БПР – регулятор в цепи обратной связи – блок принятия дополнительных решений (ΔU)

Выводы: В процессе создания БД, БЗ, ЭС проведен анализ объектов предметной области, идентифицированы базовые объекты. Созданы соответствующие концептуальные модели данных и знаний. На основе созданных моделей проведена формализация объектов и процессов в рамках системно-кибернетической структурированной модели.

doi 10.18699/PlantGen-2025-228

Реконструкция генома и транскриптома полиплоидного картофеля *Solanum tuberosum* L.

Н.А. Шмаков[1, 2]*, Д.А. Афонников[1, 2]
[1] *Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия*
[2] *Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия*
* *shmakov@bionet.nsc.ru*

Цель: Картофель *Solanum tuberosum* – одно из важнейших сельскохозяйственных растений в мире. Картофель является автотетраплоидом, и отличается высокой гетерозиготностью. Для работы с геномными и транскриптомными данными этого растения был создан двойной моноплоид *S. tuberosum* group *phureja*. Однако его геном не отражает все разнообразие генетического материала многочисленных сортов картофеля, используемых в сельском хозяйстве, в том числе в России. В то же время исследование геномов российских сортов картофеля – актуальная задача для отечественной генетики, так как это позволит выделять гены и полиморфизмы, связанные с сельскохозяйственно важными признаками для создания новых сортов. Это позволит создавать новые сорта с более выгодными для сельского хозяйства и пищевой промышленности свойствами. В данной работе проведено исследование зависимости качества определения последовательностей генов от глубины секвенирования при использовании библиотек коротких прочтений, полученных на платформах для секвенирования нового поколения.
Материалы и методы: В работе были использованы последовательности генома, транскриптома и протеома картофеля сортов картофеля, отличающихся разной плоидностью. Также исходные библиотеки секвенирования геномов различных сортов картофеля, представленные в публичном доступе в базах данных SpudDB, NCBI SRA. Выравнивание проводилось как для полноразмерных библиотек, так и для подвыборок, имитирующих пониженную глубину секвенирования. Проведен поиск ортологов между аминокислотными последовательностями белков разных сортов картофеля с помощью программного обеспечения OrthoFinder. Также, было проведено выравнивание полногеномных последовательностей с помощью программ Gmap. Minimap и Nucmer. Для установления синтении использовались программы MCScan и GENESPACE.
Результаты: Определены ортологи между генами двойного моноплоида, диплоидного и тетраплоидного картофеля. На основании полученной ортологии и полногеномного выравнивания построена синтения между хромосомами сортов картофеля с разной плоидностью. По результатам картирования прочтений геномных библиотек были определены полиморфизмы между ортологичными генами у разных сортов картофеля, в том числе в белок-кодирующих участках генов, и восстановлены последовательности генов, относящиеся к разным генотипам картофеля. Проведена оценка качества определения полученных полиморфизмов, и перспективы определения последовательностей генов на основании картирования библиотек коротких прочтений на геном референсного сорта.
Выводы: Полученные результаты помогают установить глубину секвенирования, достаточную для определения последовательностей на основании картирования библиотек коротких прочтений на референсный геном.
Финансирование: Работа выполнена при поддержке бюджетного проекта № FWNR-2022-0020.

doi 10.18699/PlantGen-2025-229

Влияние биопестицида Новохизоль на иммунитет мягкой пшеницы: лабораторные и полевые оценки

А.Б. Щербань[1]*, Е.С. Сколотнева[1], А.В. Федяева[1], Е.А. Орлова[1], С.В. Бурлакова[2], Н.И. Бойко[1], В.В. Фоменко[3]

[1] *Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия*
[2] *Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий, п. Краснообск, Россия*
[3] *Институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия*
* *atos@bionet.nsc.ru*

Использование биопестицидов для защиты сельскохозяйственных культур от патогенов и повышения их урожайности является перспективным направлением. Среди биологических средств защиты особое место занимает хитозан и его производные, в частности Новохизоль. Последний получен путем преобразования линейных молекул хитозана в глобулы с повышенной устойчивостью, растворимостью, адгезией к растительным тканям, способностью сорбировать другие действующие вещества и усиливать их действие. В данном сообщении обобщены результаты полевых и лабораторных экспериментов, показавших эффекты Новохизоля *per se* и его комплексов с фунгицидами на восприимчивость растений мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. к грибным патогенам. Особое внимание уделено результатам биохимического анализа влияния данного препарата на антиоксидантную систему, являющуюся триггером защитных реакций, направленных на подавление развития патогена в тканях растений.

Финансирование: Исследование выполнено в рамках проекта Российского научного фонда № 23-16-00119.

doi 10.18699/PlantGen-2025-230

Улучшение качества зерна сорго посредством геномного редактирования и РНК-сайленсинга генов кафиринов

Л.А. Эльконин[1]*, Г.А. Геращенков[2], Н.В. Борисенко[1], С.Х. Сарсенова[1], Н.Ю. Селиванов[3], В.М. Панин[1]
[1] *Федеральный аграрный научный центр Юго-Востока, Саратов, Россия*
[2] *Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия*
[3] *Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ Саратовский научный центр Российской академии наук, Саратов, Россия*
** lelkoninl@gmail.com*

Цель: Исследование проявления основных биологических и агрономически-ценных признаков в потомстве мутантов сорго, полученных в экспериментах по геномному редактированию нуклеотидных последовательностей, кодирующих α- и γ-кафирины, а также линий (поколения T_5, T_6), полученных из потомства мутанта, несущего генетическую конструкцию для РНК-сайленсинга гена γ-кафирина.
Материалы и методы: Исследовали мутанты, полученные у сорта зернового сорго Аванс с помощью геномного редактирования и генетической трансформации с использованием вектора для РНК-сайленсинга гена *gKAF1*. Использовали методы классической ПЦР и секвенирования по Сэнджеру. Перевариваемость белков зерна оценивали путем обработки муки пепсином в системе *in vitro* с последующим SDS-гель-электрофорезом в ПААГ. Содержание аминокислот определяли с помощью ВЭЖХ-анализа. Растения выращивали на опытном поле Селекционного комплекса ФАНЦ Юго-Востока.
Результаты: Трансгенные линии, полученные у сорта Аванс, содержащие конструкцию для РНК-сайленсинга гена γ-кафирина (*gKAF1*), отличались от исходного сорта меньшей высотой, укороченной цветоножкой, сниженной массой 1000 зерен и урожайностью зерна с метелки. Однако у многих растений наблюдалось повышение содержания белка в зерне (до 15.5%, по сравнению с 11.5% у исходного сорта) и лизина (на 64–121%). С учетом более высокого содержания белка и его более высокой перевариваемости (до 85–94%, по сравнению с 60–62% у исходного сорта), сбор перевариваемого протеина с 1 га у линий с конструкцией для РНК-сайленсинга был выше, чем у сорта Аванс на 15–61%. Анализ потомства мутантов, полученных в экспериментах по геномному редактированию, несущих мутации в сигнальной последовательности 22kDa α-кафирина, показал, что растения поколений T_2 и T_3, также отличались от исходного сорта сниженной высотой растения. Однако длина цветоножки, масса 1000 зерен и урожай зерна с метелки не отличались от исходного сорта Аванс. Часть зерновок у некоторых растений имела модифицированный эндосперм: полностью мучнистый, либо с вкраплениями стекловидного эндосперма, либо с тонким стекловидным слоем. Уровень перевариваемости белков зерна в потомстве двух мутантов (2C-2.1.1 – № 13 и 2C-1.2.5a – № 14) варьировал от 77 до 84%, превышая исходный сорт ($p<0.05$). Уровень перевариваемости белков из зерновок с модифицированным эндоспермом был выше, чем у зерновок с обычным стекловидным эндоспермом ($p<0.05$). Обнаружено, что у обоих мутантов в 23-й позиции нуклеотидной последовательности гена *k1C5*, кодирующей сигнальный полипептид α-кафирина, присутствует одна и та же мутация: T→C, которая привела к замене кодирующего триплета CTC→CCC (Leu→Pro). Эта мутация располагается за пределами выбранной мишени, в направлении 3’ от последовательности PAM. Возможно, эта мутация возникала в результате ошибок нуклеазы CAS9, обусловленных наличием нескольких последовательностей PAM, расположенных близко друг к другу. В потомстве других мутантов наблюдались нецелевые мутации: карлики, низкорослые индивидуумы, тонкостебельные растения с мелкими семенами, растения с бурыми пятнами на листьях, в которых происходил некроз листовой ткани, приводивший к стерильности метелок или гибели растений. В потомстве мутантов (поколение T_1), которые были получены с использованием вектора 3C, нацеленного на индукцию мутаций в сигнальной последовательности γ-кафирина, выявлены растения со значительно более высоким уровнем перевариваемости (до 89%). Зерновки этих растений имели модифицированный тип эндосперма и по своему фенотипу были аналогичны зерновкам мутантов сорта Аванс, несущих генетическую конструкцию для РНК-сайленсинга гена *gKAF1*. Однако, в отличие от RNAi-мутантов, потомство растений, полученных с использованием вектора 3C для геномного редактирования, не имело значимых отличий от исходного сорта Аванс по морфологическим признакам. В поколении T_2 при выращивании в условиях опытного поля уровень перевариваемости составлял 74–78%; у большей части зерновок присутствовал тонкий слой стекловидного эндосперма.
Выводы: Обе технологии – RNAi и CRISPR/Cas9 – могут использоваться для создания сорго с улучшенной перевариваемостью белков зерна. Однако конструкция для RNAi гена *gKAF1* вызывает широкий спектр нецелевых эффектов, не наблюдающихся у мутантов, индуцированных вектором 3C.
Финансирование: Исследование поддержано проектом РНФ № 24-16-00063.

doi 10.18699/PlantGen-2025-231

Филогения микогетеротрофного рода *Epirixanthes* (Polygalaceae, Fabales): уточнение числа видов и морфологическая эволюция

С.В. Юдина[1, 2]*, M. Dančák[3], M. Hroneš[4], М.Д. Логачёва[5], М.С. Нуралиев[2, 6]
[1] *Лаборатория геномики растений Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия*
[2] *Кафедра высших растений биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*
[3] *Department of Ecology & Environmental Sciences, Faculty of Science, Palacký University, Olomouc, Czech Republic*
[4] *Department of Botany, Faculty of Science, Palacký University, Olomouc, Czech Republic*
[5] *Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия*
[6] *Joint Russian-Vietnamese Tropical Scientific and Technological Center, Hanoi, Vietnam*
* *yudina.sophia@gmail.com*

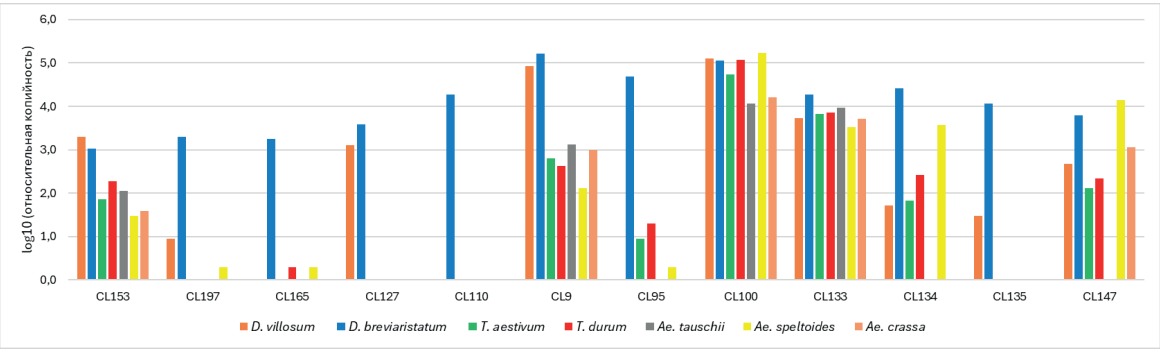
Цель: Род *Epirixanthes* из семейства истодовые (Polygalaceae) представлен исключительно микогетеротрофными бесхлорофилльными видами. На сегодняшний день принято считать, что род включает семь видов, однако морфологическое сходство некоторых ставит под сомнение их таксономическую самостоятельность. Цель работы – на основе данных высокопроизводительного секвенирования уточнить видовое разнообразие рода и выявить особенности его морфологической эволюции.
Материалы и методы: Впервые проведено филогенетическое исследование, включающее все семь принятых на данный момент видов *Epirixanthes*. Всего в анализе использованы 30 образцов, для 16 из которых проведено секвенирование *de novo* тотальной геномной ДНК на платформе Illumina, а также изучена морфология с использованием световой и сканирующей электронной микроскопии. В филогенетических реконструкциях были использованы 14 маркеров: 3 ядерных участка (ETS, 18S rRNA, ITS1-2) и 11 белок-кодирующих пластидных генов *(accD*, *matK*, *rpl14*, *rpl16*, *rps2*, *rps3*, *rps4*, *rps7*, *rps8*, *rps14*, *rps18*). Для остальных 14 образцов данные были взяты из GenBank (из используемых маркеров доступными были только *matK* и ITS1-2). Для изучения морфологической эволюции была составлена матрица, содержащая 13 морфологических признаков. Реконструкция предковых состояний была проведена в Mesquite v. 3.81 с использованием метода максимальной экономии.
Результаты: Все филогенетические реконструкции поддерживают монофилию рода *Epirixanthes*. Образцы *E. elongata* формируют кладу с типовым образцом *E. confusa*, глубоко погруженным в нее. Таким образом, филогенетические данные противоречат идее о самостоятельности этих видов. Детальное морфологическое исследование также не подтвердило обособленность *E. elongata* и *E. confusa*. Так, голые листья и не опадающие до созревания плодов брактеи, описанные ранее как диагностические признаки *E. confusa*, на самом деле характерны и для *E. elongata*. Кроме того, у *E. elongata*, по всей видимости, не происходит удлинения междоузлий соцветия, которое предлагалось в качестве одного из отличий этого вида от *E. confusa*. На основании совокупности полученных молекулярно-филогенетических и морфологических результатов мы полагаем, что всех представителей этой клады следует рассматривать в составе вида *E. elongata*. Проведенные реконструкции предковых состояний позволили сделать вывод и о том, что для *Epirixanthes* характерно большое число гомоплазий. Наибольшее их число отмечено для видов *E. compressa и E. elongata*: форма края брактей, форма плода, длина столбика и отсутствие трубки чашечки. Однако эти виды занимают филогенетически удаленное положение (сестринским видом к *E. compressa* является *E. papuana*, имеющий с ним целый ряд структурных отличий). Для некоторых признаков *Epirixanthes* большое число гомоплазий связано, в том числе с внутривидовой вариабельностью. Одним из таких признаков является количество тычинок, которое постоянно лишь у *E. elongata*, *E. confusa* и *E. papuana*. Негомопластическая эволюция, по всей видимости, характеризует только два признака: форму чашелистиков и форму их края.
Выводы: Мы предлагаем синонимизировать *E. confusa* с *E. elongata* на основании выявленных родственных связей между образцами и отсутствии морфологических различий между ними. Филогенетические данные подтверждают таксономическую самостоятельность *E. compressa*, несмотря на значительное сходство морфологии этого вида с *E. elongata*. Наибольшее число гомоплазий в морфологической эволюции *Epirixanthes* отмечено для наличия трубки чашечки, длины чашелистиков, числа тычинок, соотношения размеров чашечки и плода, что обуславливает сложности с разграничением видов.

doi 10.18699/PlantGen-2025-232

Анализ копийности повторяющихся последовательностей *Dasypyrum breviaristatum* в геномах родственных видов методом количественной ПЦР

А.И. Юркина*, П.Ю. Крупин, Д.С. Ульянов, В.М. Соколова, М.Г. Дивашук
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», Москва, Россия
** aaaaaa3197@gmail.com*

Цель: Цель исследования состояла в сравнительной оценке копийности сателлитных повторов *Dasypyrum breviaristatum* в геномах видов *Triticeae* с помощью количественной ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ).
Материалы и методы: На основе данных полногеномного секвенирования *D. breviaristatum* PI516547 (2n = 28, геном VVV^bV^b) с использованием RepeatExplorer2 было найдено 12 сателлитных повторов. Праймера на консенсусы последовательности мономеров были подобраны с помощью алгоритма Primer3. Оценка уровня копийности выявленных сателлитов проводилась при помощи ПЦР-РВ у *D. breviaristatum* и *D. villosum* W6 21717 (2n = 14, геном VV), а также у *Triticum aestivum* (BBAADD), *T. durum* (BBAA), *Aegilops tauschii* (DD), *Ae. speltoides* (SS, генетически близок субгеному B пшеницы) и *Ae. crassa* ($D^1D^1X^{cr}X^c$) с помощью разработанных праймеров на амплификаторе CFX (Bio-Rad Laboratories, Inc., США). Расчет копийности сателлитов осуществляли относительно значения порогового цикла у гена *VRN1*. Так как полученные в результате экспериментов значения копийности повторов различались между изучаемыми видами на несколько порядков, для удобства анализа их преобразовали с помощью десятичного логарифма.
Результаты: Полученные в результате ПЦР-РВ значения относительной копийности повторов выявленных сателлитных повторов представлены на рисунке. Повторы были условно классифицированы на следующие группы: с низкой (≤ 2), средней (<2, >4) и высокой копийностью (≥ 4). Высококопийными для *Dasypyrum* являются CL9 и CL100, в свою очередь CL100 имеет самую высокую копийность у *Ae. speltoides*, а также обладает высоким числом копий у *T. aestivum* и *T. durum*. Помимо CL9 и CL100 *D. breviaristatum* характеризуется высококопийными CL110, CL95, CL133, CL134 и CL135. Сравнение копийности выявленных сателлитов между видами *Dasypyrum* и мягкой пшеницей позволило выявить видоспецифичные повторы: среднекопийные CL165 и CL110 для *D. breviaristatum*; низкокопийный для *D. villosum* и среднекопийный для *D. breviaristatum* CL197; низкокопийные для *D. villosum* и среднекопийные для *D. breviaristatum* CL127 и CL135. При этом CL197 отличается низким числом копий у *Ae. speltoides*, а наличие CL127 и CL135 в других исследуемых видах методом ПЦР-РВ выявлено не было.



Относительная копийность сателлитных повторов у изучаемых видов, выраженная через десятичный логарифм

Оценка вариабельности повторов по коэффициенту вариации между всеми изучаемыми видами *Dasypyrum*, *Triticum*, *Aegilops* показала, что разнообразием по копийности отличаются повторы (по убыванию): CL110, CL165, CL135, CL197, CL95, CL134, CL9, CL153, CL147, CL127, CL100 и CL133. Высокое сходство по числу копий было обнаружено у *D. villosum* и *D. breviaristatum* (r = 0,87), у *D. villosum* и *T. aestivum*, *T. durum*, *Ae. speltoides* и *Ae. crassa* (0,80≤r≤0,87), а *D. breviaristatum* показал наименьшее сходство с исследуемыми видами *Aegilops* и *Triticum* (0,41≤r≤0,48)
Выводы: Установлен уровень копийности 12 новых сателлитных повторов *D. breviaristatum* у родственных видов различного геномного состава, выявленные повторы классифицированы по уровню копийности и вариативности между видами. Выявленные нами сателлитные повторы могут быть использованы для проведения филогенетических, эволюционных и популяционных исследований злаков в качестве молекулярно-генетических маркеров.
Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ 24-16-00286, https://rscf.ru/project/24-16-00286/.

doi 10.18699/PlantGen-2025-233

Развитие эффективного арбускулярного микоризного симбиоза: особенности подбора растения и гриба

А.П. Юрков*, А.А. Крюков, Т.Р. Кудряшова, А.И. Горенкова, А.И. Ковальчук, А.И. Беляева
ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия
** ap.yurkov@arriam.ru*

Цель: Разработка высокоэффективной растительно-микробной системы на основе отзывчивого на инокуляцию растения-хозяина и гриба арбускулярной микоризы. Задачи: 1) оценка влияния микоризации на метаболом и транскриптом растения-хозяина, выявление основных путей развития эффективной арбускулярной микоризы; 2) создание коллекции штаммов грибов арбускулярной микоризы для формирования эффективных растительно-микробных систем, их идентификация и оценка симбиотической активности и эффективности.

Материалы и методы: Объектами исследования являются высокоотзывчивая на микоризацию линия MlS-1 *Medicago lupulina*, характеризующаяся высокой симбиотической эффективностью арбускулярной микоризы (АМ), и эффективный тестовый штамм RCAM00320 *Rhizophagus irregularis* (выделен в лаборатории № 4 ФГБНУ ВНИИСХМ). Проведен вегетационный эксперимент в условиях дефицита и оптимального уровня доступного для питания растений фосфора. Оценивали влияние микоризации на метаболом и транскриптом растения-хозяина в ключевые фазы развития. Метаболитные профили получены с использованием масс-селективного детектора Agilent 5975 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). Анализ ГХ-МС данных был проведен с использованием программного обеспечения PARADISe. Метаболиты идентифицированы с использованием базы KEGG. Для анализа транскриптома использован метод MACE (Massive Analysis of cDNA Ends, массовый анализ концов кДНК). Прочтения сопоставлены с эталонным геномом. Дифференциальный анализ экспрессии генов проводился с использованием пакета DESeq2 в среде R (версия 4.1.1), только гены со скорректированным значением $p<0.01$ считались экспрессирующимися с существенной разницей. Для присвоения функциональных категорий генам использовался онлайн-инструмент MapMan4. Группы генной онтологии (GO) получены с помощью программы eggNOG-mapper. Анализ обогащения GO проведен с использованием теста Колмогорова–Смирнова.

Проведен сбор изолятов грибов АМ в регионах РФ, выделение штаммов, идентификация грибов по регионам баркодирования ITS1 и ITS2 с применением Illumina MiSeq, оценка симбиотической эффективности (способ оценки запатентован автором, патент № 2776652 от 22.07.2022) и активности микоризации в растворе трипанового синего стандартными методами световой микроскопии и с применением разработанной авторами компьютерной программы для оценки индексов микоризации (свидетельство о регистрации программы для ЭВМ № 2016612112 от 18.02.2016).

Результаты: Анализ метаболитных профилей *M. lupulina* 327 первичных метаболитов показал, что ключевые АМ-индуцированные метаболитные перестройки происходят в фазу начала бокового ветвления. АМ позитивно регулирует биосинтез белка, углеводов, липидов. Влияние АМ на энергетический обмен имеет разнонаправленные тренды. В результате исследования среди метаболитов корней *M. lupulina* можно выделить следующие 14 маркеров развития эффективного АМ-симбиоза, характеризуемых апрегуляцией при дефиците и достаточном уровне Рд: гексоза RI = 1881, сложный сахар RI = 3273, трегалоза, глицерин, глицерин-3-фосфат, этаноламинфосфат, кампестерол, стеролы RI = 3260, RI = 3362, миоинозитол-2-фосфат, метилфосфат и фосфорная кислота. Существенная позитивная регуляция содержания фосфатов свидетельствует о том, что инокуляция АМ-грибом достоверно нивелировала влияние дефицита фосфора на растения. Негативными регуляторами развития эффективного АМ-симбиоза при обоих уровнях фосфора выступили янтарная и лимонная кислоты. В результате исследования экспрессии 44465 генов выявлено значительное число дифференциально экспрессируемых при микоризации генов, которое составило 3852 гена. Проведена их функциональная аннотация. Наибольшим числом генов с позитивной регуляцией при АМ обладали группы: 1) метаболизм аминокислот; 2) метаболизм углеводов; 3) метаболизм липидов; 4) биосинтез, гомеостаз, модификация белков; 5) окислительно-восстановительный гомеостаз; 6) биосинтез и процессинг РНК; 7) транспорт растворенных веществ. Самым отзывчивым вариантом с самым высоким уровнем позитивной регуляции был вариант при микоризации в фазу цветения при дефиците Рд в субстрате. Суммируя результаты исследований, отобраны ключевые гены, играющие роль в развитии эффективного АМ-симбиоза. С применением Illumina MiSeq проведена идентификация, оценка эффективности и активности вновь выделенных штаммов грибов АМ. Планируется сравнительный анализ влияния микоризации эффективным и неэффективным штаммом гриба АМ на метаболом и транскриптом растения-хозяина.

Выводы: Проведен подбор сильно отзывчивого растения-хозяина и штаммов АМ-грибов разной эффективности для исследования механизмов развития эффективной АМ. Выявлены основные группы генов и метаболитов, принимающих участие в развитии эффективного АМ-симбиоза.

Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ 22-16-00064-П.

doi 10.18699/PlantGen-2025-234

Agrobacterium tumefaciens GV3101-mediated *Fagopyrum esculentum* genome transformation and DFR, LFY genes editing

L.R. Abdulkina[1, 2]*, D.O. Omelchenko[1, 2], E.S. Glagoleva[1, 3], L.V. Omelchenko[1], M.D. Logacheva[1, 2]
[1] *Vavilov Institute of General Genetics of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*
[2] *Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russia*
[3] *M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*
* *nigmatullinalili@mail.ru*

Motivation and aim: Previously, it could take tens or even hundreds of years to improve the properties of agricultural crops. However, methods have now been developed for editing almost any part of the genome in a year or even less for model plants. Buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) is a valuable agricultural crop whose nutritional value increases with the study of its biochemistry. Nevertheless, publications on the successful transformation and editing of the *F. esculentum* genome are practically absent. This paper describes a method for transforming *F. esculentum* using *A. tumefaciens* strain GV3101.

Materials and methods: Three varieties of *F. esculentum* (KK8, Shinano SC, and Design) were selected for plant transformation. *A. tumefaciens* strain GV3101 was used for agrobacterial infection. This strain is characterized by the presence of the trans-zeatin gene in the vir region, which improves the regenerative abilities of plants (Han et al., 2013). In preliminary experiments, this strain demonstrated the highest efficiency for plant infection. DFR and LFY were chosen as target genes for editing. DFR (dihydroflavonol 4-reductase) is one of the key enzymes in the biosynthesis of anthocyanins, proanthocyanidins, and other flavonoids. It participates in the regulation of phenolic metabolism and affects plant resistance to stress (Jiang et al., 2023; Li et al., 2023). The LFY gene is involved in the regulation of cell proliferation and flower development. Its functions may vary depending on the plant species: it can regulate the timing of flowering, flower formation, apical meristem development, and lateral shoot formation (Jue et al., 2022; Rodriguez-Pelayo et al., 2022; Thekkeveedu, Hegde, 2022). GFP and the Basta herbicide resistance were used as reporter genes. In our work, we used several variants of plant transformation:
1. Floral dip transformation
2. Transformation of callus tissue without vacuum infiltration of agrobacteria
3. Transformation of callus tissue with vacuum infiltration of agrobacteria
4. Transformation of etiolated sprouts without vacuum infiltration of agrobacteria
5. Transformation of etiolated sprouts with vacuum infiltration of agrobacteria

For bacterial preparation, we used a modified “starvation” protocol (Gelvin, 2006). If the seeds were heavily contaminated with bacteria, we performed preliminary sterilization with 3% hydrogen peroxide, followed by washing with distilled water. The selection of transformants and their regeneration were carried out on specific media for direct regeneration, SIM (Omelchenko et al., 2024) or MSH (MS with a sugar content of 3%, Kin 1 μg/ml, BAP 2 μg/ml, IAA 0.2 μg/ml). All nutrient media following transformation and washing contained the selective agent Basta (6 μg/ml).

Results: Floral dip transformation of buckwheat and the transformation of calli were extremely ineffective, despite using various detergents to improve tissue wettability and regardless of vacuum infiltration. The most effective infection was achieved by vacuum infiltration of agrobacteria into etiolated seedlings. To date, we have successfully performed the infiltration of agrobacteria into buckwheat seedlings, selected transformed plants using Basta, regenerated herbicide-resistant, luminescent GFP explants, rooted the regenerants, and planted them in soil. In *dfr* mutant plants, a decrease in anthocyanin synthesis was noted compared to the control, and in *lfy* mutants, flower bud formation was impaired. Despite the successful phenotypic signs of editing, we have not yet been able to confirm editing using Sanger sequencing, possibly due to the chimerism of regenerants.

Conclusions: We have developed a method for the agrobacterial (*A. tumefaciens* GV3101) transformation of *F. esculentum*.

doi 10.18699/PlantGen-2025-235

The using of speed breeding to obtain *Waxy* lines of bread wheat

M. Alkubesi[1, 2]*, A.O. Blinkov[1], A.G. Chernook[1], M.G. Divashuk[1, 2]
[1] *All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology, Moscow, Russia*
[2] *Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia*
* *malak94kifah@gmail.com*

The aim: Acceleration of obtaining *Waxy* wheat lines with amylopectin-type starch.
Relevance: The quality of starch is closely related to the ratio of its two main components: amylose and amylopectin. Granule-bound starch synthase (GBSSI) is the enzyme responsible for synthesizing amylose in wheat grain. The wild-type alleles of the *Waxy* genes, referred to as "*a*" are the most common in various wheat varieties; they do not carry mutations and express the GBSSI protein at high levels. In contrast, the "*null*" allele is nonfunctional, less common, and results in a decreased amylose content in starch. *Waxy* genes are located in each of the three subgenomes of bread wheat. The presence of three null alleles for the *Wx-A1*, *Wx-B1*, and *Wx-D1* genes leads to the formation of amylopectin-type starch, which can be utilized to develop new wheat varieties suitable for producing bakery products and noodles [1]. Several factors limit the potential for rapid selection: the long growing season of plants, dependence on seasonal conditions, the necessity to reproduce the obtained forms to generate a substantial amount of grain (for various quality and selection assessments), and the requirement to conduct multiple cycles of self-pollination to develop homozygous forms. The solution to these challenges is Speed Breeding technology, which focuses on optimizing conditions for the rapid development of plants.
Materials and methods: The study focused on promising lines of winter bread wheat that carry different allelic variants of the *Waxy* genes. The plants were grown using Speed Breeding technology in phytotrons at the All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology. DNA was extracted from lyophilized leaves following the CTAB protocol. The plants were genotyped using molecular markers (Wx-A1: AFC, AR2; Wx-B1: BDFL, BRC1, BFC, BRC2, and BDFL, BRD; also, WxB1L/R; Wx-D1: Wx-D1-2F/R) [1]. The work on developing wheat lines with the "*null*" alleles is conducted in our laboratory in several stages. In the first stage, a field experiment was carried out at the Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, during which parental lines with various combinations of *Waxy* gene alleles were developed. Based on the genotyping results, one crossing combination was selected that exhibited the highest number of "*null*" alleles of the *Waxy* genes, totaling 370 lines. In the second stage, only those plants that possessed a "*null*" allele in a homozygous state for three *Waxy* genes, as well as plants with two "*null*" alleles and one "*e*" allele, were selected for further work based on genotyping results. A qualitative analysis of the grain from the selected lines was also performed using the I_2/KI dye to validate the findings. Subsequently, utilizing Speed Breeding technology, we conducted several continuous cycles of growing and self-pollination of the selected lines to obtain homozygous forms, which was confirmed by genotyping results with molecular markers.
Results and conclusions: As a result of our two years of research, we have developed a set of promising homozygous lines of F_6 winter bread wheat that possess "*null*" alleles of the *Wx-A1*, *Wx-B1*, and *Wx-D1* genes. The methodology employed will enable us to rapidly develop new varieties of common wheat characterized by amylopectin-type starch. Furthermore, by utilizing the proposed Speed Breeding approach, we can efficiently replace the "*a*" alleles with "*null*" alleles in any variety, thereby altering the properties of its starch.
Funding: The research was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, State Assignment FGUM-2024-0002.

Reference
1 Klimushina M.V. et al. *Vavilov J Genet Breeding*. 2012;16(1):187-192

doi 10.18699/PlantGen-2025-236

Some features of using photomorphogenesis for soybeans (*Glycine max* L. Merr.) under accelerated vegetation conditions (speed breeding)

S.M. Avdeev*, A.A. Kocheshkova, N.Y. Svistunova, P.Yu. Kroupin, A.V. Arkhipov, A.O. Blinkov, V.Yu. Kanunnikova, S.I. Romashkina, G.I. Karlov, M.G. Divashuk

Department of Applied Genetic Research, All-Russian Research Institute of Agricultural Biotechnology, Moscow, Russia

** avdeevbio@yandex.ru*

Motivation and aim: To identify lines that fully realize their biological potential under different lighting conditions, thereby selecting the optimal material for selection.

Materials and methods: When conducting research on the effect of different day lengths and spectral composition of light, two dozen soybean genotypes were selected, which, according to maturity groups, belonged to early, mid-early and mid-late, and according to the growth type – to determinate and indeterminate groups. Two options for the duration of daylight were studied – 8 hours and 22 hours, due to which it was possible to track the degree of sensitivity of each group of varieties to the length of daylight and its effect on the development of the studied plants. During the experiment, the optimal temperature (+25 °C) and air humidity (60%) were maintained in the climatic chambers, regular fertilizing of plants was carried out taking into account the needs for the growth stages.

Results: Photoperiodism is one of the main factors affecting the development of plants, including soybeans. Photosensitive soybean varieties respond to changes in daylight hours, which affects flowering time, plant height and, ultimately, yield. Non-photosensitive varieties, on the contrary, demonstrate resistance to photoperiod changes, which makes them promising for cultivation in regions with variable climatic conditions.

Observation revealed that most of the studied lines exhibit pronounced photoperiodism: under short daylight hours, the transition to the generative phase occurs 26 days after sowing, which is 20–22 days earlier than under long day conditions (47 days). Some varieties were insensitive to daylight hours, and their flowering occurred on the 28th day after sowing regardless of the photoperiod, which opens up opportunities for their use in regions with variable climatic conditions. Short daylight accelerated the onset of the main phenological phases: flowering, emergence of ovaries, filling of beans and seeds occurred earlier. The vegetation period for early-ripening varieties in the short-day group was 85 days, and for late-ripening ones – 94 days, due to the reduction of periods between phenophases. Under long-day conditions, an increase in plant height and an extended vegetation period of up to 110 days were observed. During the experiment, it was found that with a 22-hour photoperiod, the height of indeterminate varieties reached 170 cm, while for determinate varieties it was 70 cm. With an 8-hour daylight, the maximum height of indeterminate varieties did not exceed 130 cm, and for determinate varieties – 50 cm. Differences were found between plant height and internode length under different photoperiods, while the number of internodes was the same. The maximum number of beans formed under long day was 52 pcs., and under short day – 37 pcs. Using digital phenotyping to evaluate and differentiate soybean plants grown under different day lengths showed that under long photoperiod it is possible to obtain a broader differentiation of lines, both time series and at single time points, using clustering.

Conclusions: Varieties with different sensitivity to photoperiod were identified. The results of the study show that long days not only contribute to an increase in plant height, but also affect the duration of their vegetation. These patterns open up new opportunities for breeding and agronomic practice, allowing the selection of soybean varieties that are better adapted to the conditions of a particular region and are able to provide an optimal yield even under conditions of limited time for harvesting.

Funding: The research was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, State Assignment No. FGUM-2025-0011.

doi 10.18699/PlantGen-2025-237

Textural characteristics of wheat grain images from the ITMI population

D.R. Avzalov[1]*, E.G. Komyshev[1], D.A. Afonnikov[1, 2, 3]
[1] *Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia*
[2] *Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*
[3] *Kurchatov Genomic Center of the Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia*
* *AvzalovDR@bionet.nsc.ru*

Motivation and aim: Wheat grain texture in images characterizes the structural properties of its coat. These properties may influence grain susceptibility to pests and mechanical damage. Texture features are less studied in digital images of grains compared to color and morphological characteristics. In this study, 16 texture features of wheat grains from the ITMI population were estimated in images using the Gray Level Co-occurrence Matrix (GLCM) and the Gray Level Run-Length Matrix (GLRM) [1]. The aim is to describe the diversity of grain coat properties in wheat, understand their relationship with genetic and environmental factors, evaluate their changes during storage, and assess their potential as markers for breeding programs.
Methods and Algorithms: Texture characteristics included homogeneity, entropy, cluster shade, run ratios, and other properties estimated from the Gray Level Co-occurrence Matrix (GLCM) and the Gray Level Run-Length Matrix (GLRM). Hierarchical cluster analysis (HCA) [2] was used to compare texture traits with color and morphological features. Principal component analysis (PCA) [3] identified the most variable texture traits in the ITMI population. ANOVA [2] was performed to assess the relationships between texture and genetic (genotype) and environmental (harvest year) factors. Linear correlation analysis, supported by permutation and bootstrap testing, explored the linear relationships between texture traits and storage duration.
Results: In the HCA diagram texture traits form separate clusters suggesting their independence of other grain features. PCA revealed two main components of variation: surface roughness (PC1) and wrinkling (PC2), effectively separating genotypes based on texture. ANOVA showed that both genetic and environmental factors influence texture traits, genotype affects more traits. Correlation analysis demonstrated that uniformity-related traits tended to increase over time, while complexity-related features, such as contrast and roughness, decreased. Permutation and bootstrap methods [2] validated the observed correlations.
Conclusions: Texture features of wheat grains in the images demonstrated large variation in the ITMI population. They are independent of other traits suggesting they are under different genetic control. Future work should focus on linking these changes to biochemical processes and refining methods for their practical application in wheat breeding and storage management.
Funding: The work was supported by the budget project FWNR-2022-0020.

References

1 Majumdar S., Jayas D.S. Classification of bulk samples of cereal grains using machine vision. *J Agric Eng Res*. 1999;73(1):35-47
2 Afonnikov D.A. et al. Relationship between the characteristics of bread wheat grains, storage time and germination. *Plants*. 2021;11(1):35
3 Arif M.A.R. et al. QTL analysis for bread wheat seed size, shape and color characteristics estimated by digital image processing. *Plants*. 2022;11(16):2105

doi 10.18699/PlantGen-2025-238

Using molecular genetic testing and field evaluation methods to develop new tomato breeding material with complex resistance to diseases

O.G. Babak[1], E.V. Drozd[1]*, K.K. Yatsevich[1], N.V. Anisimova[1], N.A. Martinovskaya[1], G.R. Rodríguez[2], M.P. Gómez[2], T.H. Ramos[2], E.B. González[2], Y.C. Herrera[2], A.V. Kilchevsky[1]
[1] *Institute of Genetics and Cytology, the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus*
[2] *Liliana Dimitrova Horticultural Research Institute, Mayabeque, Cuba*
* *E.drozd@igc.by*

Motivation and aim: Molecular testing of tomato accessions from the Belarusian-Cuban collection for the presence of disease resistance genes using newly developed and known in the literature markers and the selection of material with a complex of economically valuable traits during field trials.
Materials and methods: The studies were conducted on the open ground tomato accessions (*Solanum lycopersicum*) of the Belarusian-Cuban collection: Zorka, Garant, Chirok, Bercut, Tamara, Irma, Redgrant, Dividend, Spazhitak, Istochnik, Zvezdopad, L-43, Daniel, Pablo, Lyto, Sile, LR-13, LRs-30, L 22/11, L 29/6, L33/1, L41/3 and Alty. Cuban selection accessions combining in the genotype of *Ty-1* and *Ty-3* alleles resistant to *tomato yellow leaf curl virus* (*TYLCV*) from *S. chilense* (LA 2779) and the *Sw-5* allele resistant to *tomato spotted wilt virus (TSWV*) from *S. peruvianum* were developed by way of interspecific crosses and the selection of material using the pedigree method until F_9 generation. The presence of disease resistance alleles was assessed using 18 markers presented in the literature (Babak et al. 2023) and 2 new markers associated with late blight resistance alleles. The new markers were developed based on the polymorphism identified as a result of *Ph2(Ch)* (LOC101246197, Zhi X, et al, 2021) and *Ph3* (KJ563933) genes' sequencing in the accessions exhibiting varying degrees of resistance to late blight in field trials.
Results: The *Ph2 (Ch)* gene (LOC101246197) was sequenced in Dividend, Irma, Pablo, Alty and Sile accessions. An allele, which, according to Chinese researchers (Zhi X, et al., 2021), causes resistance to late blight, was identified in the Irma variety. The field trials of accessions in the climatic conditions of Cuba and Belarus confirm the maximum resistance of this accession to late blight. The CAPS marker Ph-2(R)_HindIII CC-Ase for the typing of R/S alleles of this gene was developed.
Based on the DNA marking results on *Ph3* gene alleles using the NC–LB-9-6678 marker (Panthee D.R., 2015), as well as the phenotypic assessment of late blight traits, the sequencing of Irma, Alty, Sile and LR-13 forms was performed. The comparative analysis of obtained sequences showed that the *ph-3* allele of *S. lycopersicum* (NC_090808.1) has two 11 bp deletions at the beginning of the gene, which leads to a frameshift, the appearance of an early stop codon and the synthesis of a short non-functional protein sequence. At that, the resistant LR-13 accession (according to the NC–LB-9-6678 marker) was found to have one 11 bp deletion, which also leads to the formation of a non-functional protein and susceptibility to late blight. The SCAR marker ph3 del22/11, allowing the typing for the presence of the indicated deletions associated with susceptibility to late blight, was developed.
The DNA screening of the studied tomato breeding material was carried out for the presence of alleles resistant to a number of diseases: meloidoginosis (*Mi-1.2, Mi-9*), late blight (*Ph3, Ph2 and Ph2(Ch)*, cladosporiosis (*Cf2, Cf4, Cf5* and *Cf9*), *fusarium* (*I-2, I-2C, I-3 and I-7*), verticillium (*Ve*), bacterial spot (*Rx-4, Pto*), bacterial speck (*Pto*), yellow curl leaf (*Ty2, Ty3*), tomato mosaic (*Tm-1, Tm-2*) and spotted wilt (*Sw-5b*). Based on DNA typing results, among the accessions of the compiled collection, the forms that combine 7-9 disease resistance alleles were identified: Lyto (7 R), LRs-30 (7 R), Pablo (8 R), Alty (8 R), Sile (9 R) and LR-13 (9 R).
Conclusions: New molecular markers, allowing the ranking of accessions by resistance to late blight, have been developed. Based on the molecular testing for disease resistance, the best tomato accessions from the Belarusian-Cuban collection have been selected for further use in the breeding process.
Funding: The joint research was supported by the BRFFR agreement of December 1, 2023, No. B23KUB-009 (Belarus) and the CITMA agreement CV.001.001.24.12.07 (Cuba) "Study of the genetic polymorphism of disease resistance genes in the tomato forms of Cuban and Belarusian origin with high productivity to improve the efficiency of breeding programs".

doi 10.18699/PlantGen-2025-239

Deciphering molecular mechanism underlying 10-stamen phenotype in *Capsella bursa-pastoris*

A.M. Barkovskaya[1, 2]*, S.V. Yudina[2, 3], A.V. Klepikova[2], M.D. Logacheva[1, 2], A.A. Penin[2]
[1] *Skolkovo Institute of science and Technology, Moscow, Russia*
[2] *Vavilov Institute of General Genetics Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*
[3] *Department of Higher Plants, Biological Faculty, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*
* *Anastasia.Barkovskaiia@skoltech.ru*

Motivation and aim: Flower development is a complex morphogenetic process dependent on the precise regulation of genes that determine the identity and number of floral organs. The study of *Arabidopsis* mutants with various floral abnormalities led to the rise of the ABC-model of flower development, in which homeotic genes play a key role, defining the formation of sepals (A-class genes), petals (A- and B-class genes), stamens (B- and C-class genes), and carpels (C-class genes) in the particular quantity in the correct location. Investigating these genes is vital for understanding the evolution of flowering plants, as alterations in their function and regulation can lead to significant morphological transformations, promoting plant adaptation.
We are investigating a natural homeotic *Capsella bursa-pastoris* mutant with a unique floral morphology: 10 stamens instead of 6, accompanied by the absence of petals (replaced by stamens). This "decandric" phenotype is absent in *Arabidopsis*, making it a valuable system for uncovering new mechanisms of homeotic gene function and regulation. Our goal is to elucidate the genetic basis of this unusual phenotype.
Materials and methods: Mutant plants were crossed with the wild type (*C. bursa-pastoris* with 6 stamens and 4 petals). F2 plants were phenotyped to determine the inheritance pattern of the aberrant trait. Bulked Segregant Analysis (BSA) using next-generation sequencing (NGS) was employed to map loci controlling atypical flower morphology. Differential gene expression was analyzed using RNA-seq.
Results: Segregation ratio of the mutant phenotype in the F2 generation of crosses between mutant and wild-type plants comprises 1:2:1 between stamenoid vs. intermediate vs. wild-type second whorl organs. This suggests a monogenic mode of inheritance for the trait, with incomplete dominance of mutant allele. BSA identified the location of a locus associated with the 10-stamen trait on chromosome R4 of *C. bursa-pastoris*. Differential expression analysis revealed 80 genes with reduced expression in the "decandric" mutant compared to the wild type, of which 57 genes are located on chromosome R4. Notably, the key regulator of stamen and carpel development, the *AGAMOUS (AG)* gene, resides in this region. However, its expression was not altered in the mutant ecotype. GO-annotation of Up-regulated genes is enriched in genes controlling pollen formation. Down-regulated genes are enriched in stress-related processes.
Comparative sequence analysis of the *AG* gene in 66 *C. bursa-pastoris* ecotypes, including the "decandric" mutant and wild type, showed that the only substitution unique to the "decandric" mutant is located in the fourth intron at R4:8,853,384 T -> A. This substitution may be significant, as regulatory elements are known to reside in the second intron of the *AG* ortholog in *Arabidopsis*. Alternatively, epigenetic changes might be involved.
Conclusions: The results indicate that decandrous phenotype in *C. bursa-pastoris* is defined by a change in AG or closely linked region. In the former case this is the most likely change in the regulatory element conferring the possibility of ectopic expression in the second whorl. Since *AG* expression is not altered, it is possible that *AG* regulation occurs at the post-transcriptional level, for example, via the action of non-coding RNAs. The concerted downregulation of genes of the same chromosome where the causative gene is located suggests the involvement of epigenetic mechanisms.
Funding: The study was supported by Vavilov Institute of General Genetics, project No. FFRW-2024-0003.

doi 10.18699/PlantGen-2025-240

Comparative transcriptome analysis of embryogenic and non-embryogenic callus of tartary buckwheat

M.A. Bashir[1]*, D.O. Omelchenko[1, 2], A.A. Penin[2], N.I. Rumyantseva[3], M.D. Logacheva[1, 2]
[1] *Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russia*
[2] *Vavilov Institute of General Genetics, Moscow, Russia*
[3] *Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, Kazan, Russia*
* *Ammar.Bashir@skoltech.ru*

Motivation and aim: Tartary buckwheat is a nutritionally important crop for human consumption due to the high content of rutin and the absence of gluten protein. Therefore, different conventional breeding strategies are used to improve it to meet the demand of a growing population. However, improvement through conventional breeding is challenging due to cross-incompatibility barriers with wild relatives, which are a key source of beneficial genes for traits such as indeterminate growth habit, thousand-grain weight, and seed shape. But, the availability of modern biological tools such as CRISPR-Cas9 and transgenesis provides an opportunity to improve buckwheat production. However, the success of these molecular tools depends on the availability of efficient *in vitro* regeneration system. Based on previous studies, it is well-established that genetic variability and loss of morphogenic activity in calli during long-term cultivation are common traits in most plant cell cultures, which prevent to develop stable mutant's lines through *in vitro* regeneration. However, under certain experimental conditions (not yet fully understood), Tartary buckwheat can form embryogenic calli that retain their morphogenic potential in culture for decades, making them an excellent model for studying somatic embryogenesis. Therefore, the objective of this study was to conduct a comparative transcriptome analysis of two embryogenic callus (EC) and two descendant non-embryogenic callus (NEC) lines to understand the molecular basis of the long-term embryogenic activity of Tartary buckwheat calli.

Materials and methods: Immature embryos from Tartary buckwheat line K-17 were used to obtain two embryogenic calli (EC), line 1-8 (K1) and line 1-10 (K3), on RX medium containing Gamborg's B_5 mineral salts, hormones and casein hydrolysate. Additionally, two non-embryogenic calluses (NEC) lines, 1-8p (K2) and 1-10p (K4), were derived from K1 and K3 during long-term culture, respectively. Furthermore, these EC and NEC lines were sub-cultured and sampling for RNA-Seq was done at 4 and 11 days. After sequencing, the quality of the sequenced samples and trimming of the poor-quality reads were performed by FastQC and Trimmomatic tools, respectively. Furthermore, the mapping to the reference genome Pinku1 (http://www.mbkbase.org/Pinku1/) was done by HISAT2. After mapping, the count matrix was generated by featureCounts during quantification step. Moreover, the Pearson correlation was calculated to perform the quality control within and between samples. The DESeq2 package was used to conduct differential expression analysis using R software. The enrichment analysis was performed by PlantGSAD (http://systemsbiology.cau.edu.cn/PlantGSEAv2/) software using a customized tool.

Results: In our study, a total of 22,164 and 19,793 DEGs (Differentially Expressed Genes) were observed at 4 and 11 days, respectively, between EC and NEC samples. At 4 days, 5,907 genes were upregulated in EC sample K1 compared to NEC sample K2, while 6,285 genes were upregulated in EC sample K3 compared to NEC sample K4. Similarly, at 11 days, 5,115 and 5,415 genes were upregulated in the samples K1 and K3, respectively, when compared to the samples K2 and K4. Furthermore, at the 4-day time point, 5,409 genes were downregulated in K1 relative to K2, and 4,563 genes were downregulated in K3 relative to K4. At the 11-day time point, 4,816 genes were downregulated in K1 compared to K2, while 4,448 genes were downregulated in K3 compared to K4. Out of total DEGs, around 4,078 genes were common in both 4 and 11 days that potentially involved in the common processes between EC and NEC samples. Some of the key genes were identified as being involved in regulating meristem maintenance and embryo development in our samples. Among these genes, *PDF2, WOX5, YABBY, WOX4, LEC1*, *FUS3*, *ABI3*, and *STM w*ere upregulated in both EC samples compared to NEC samples. On the other hand, an important group of genes, including HDACs (Histone Deacetylases) such as *HDA6* and *HDA19*, as well as *ATRING1b*, *MET1*, *CMT3*, and *EXT*, were identified as upregulated in NEC samples. However, only *HDA6*, *ATRING1b*, *CMT3*, and *EXT* showed expression at both 4 and 11 days in NEC samples. Additionally, genes involved in auxin, ethylene, and gibberellic acid hormone signaling were also identified in EC samples. In EC samples, terms related to glutathione metabolic processes, transcription regulator activity, glutathione transferase activity, oxidoreductase and monooxygenase activity were identified. In contrast, in NEC samples, terms associated with cytoskeleton, cell wall organization, glycosyltransferase and phosphotransferase activity were identified.

Conclusions: In conclusion, our study revealed key genes and GO terms involved in regulating embryogenic activity in Tartary buckwheat. Moreover, in the future, this study will help researchers improve their understanding of the underlying molecular mechanisms of somatic embryogenesis in buckwheat and ultimately enhance *in vitro* regeneration potential of recalcitrant genotypes, enabling the application of modern molecular tools for improving buckwheat.

doi 10.18699/PlantGen-2025-241

Impact of genome-edited *PPD-1* promoter mutations on diurnal expression rhythms and heading time in *Triticum aestivum* L.

A.A. Berezhnaya[1]*, A.A. Kiseleva[1, 2], E.A. Salina[1, 2]
[1] *Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia*
[2] *Kurchatov Genomic Center, Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia*
* *BerezhnayaAA@bionet.nsc.ru*

Motivation and aim: Heading time in cultivated plants is one of the key factors determining their adaptability to the environment, which, in turn, affects crop yield. A collection of spring bread wheat (*Triticum aestivum* L.) line Velut plants with mutations in the promoter region of *PPD-1* genes was generated using CRISPR/Cas9 genome editing. This mutant plant collection was used to investigate the function of transcription factor binding sites identified in the *PPD-1* promoter.

Materials and methods: To assess heading time, yield-related traits, and *PPD-1* gene expression in plants with different mutations, we cultivated selected T2 plants under long-day field conditions. For this experiment, we selected six lines with different types of mutations, including deletions and insertions of varying lengths, and confirmed their genotypes using PCR with specific primers. To evaluate the expression dynamics of *PPD-1* genes in field-grown plants, four individuals per line at the flag leaf stage were sampled. Tissue collection was performed over a 24-hour cycle at 4-hour intervals. The expression of the target gene was normalized to the reference gene *MetAP1*, and relative expression values were calculated using the Pfaffl method.

Results: The study assessed heading time, plant height, and main spike grain weight across multiple lines. Several lines exhibited delayed heading relative to controls, while plant height and grain weight varied by line. A line harboring a large deletion in *Ppd-D1* and a more extensive *Ppd-B1* deletion compared to other lines showed a statistically significant advance in heading time, suggesting that the combined mutations in both genes may underlie its accelerated heading phenotype.

Analysis of the diurnal expression pattern of *PPD-1* genes revealed distinct trends. In control plants, *Ppd-D1* and *Ppd-B1* expression exhibited two peaks: one after four hours of light exposure and another after twelve hours, with nearly absent expression during the dark period. Lines with a deletion in the BOXIIPCCHS binding site and a 345 bp insertion located below the two CHE binding sites demonstrated similar *Ppd-D1* expression patterns, peaking after four and twelve hours of light exposure, though at slightly reduced levels compared to controls.

In contrast, a line with a large deletion affecting both CHE binding sites exhibited elevated *Ppd-D1* expression, supporting the hypothesis that these CHE sites constitute a core regulatory region necessary for the high-level expression of *Ppd-D1*.

Regarding *Ppd-B1* expression, lines with partial or complete deletions of a single CHE binding site displayed expression patterns similar to those of the control line.

Conclusions: Our findings demonstrate that targeted deletions in transcription factor binding sites, including the CHE motif, modulate gene expression patterns, underscoring the functional role of these cis-regulatory elements in controlling *PPD-1* expression. The engineered wheat lines carrying diverse mutations in the *Ppd-D1* and *Ppd-B1* promoters provide a valuable resource for in-depth analysis of their regulatory mechanisms.

Funding: The study is supported by budget project No. FWNR-2024-0009.

doi 10.18699/PlantGen-2025-242

Creation of transgenic tobacco plants with two target genes by hybridization

Z.A. Berezhneva*, B.R. Kuluev
Institute of Biochemistry and Genetics – Subdivision of the UFRC RAS, Ufa, Russia
** berezhneva-z@yandex.ru*

Motivation and aim: Creation of transgenic tobacco plants *Nicotiana tabacum* L., with constitutive expression of two transgenes using the hybridization method.
Materials and methods: The hybridization work used previously created transgenic tobacco plants with *ARGOS-LIKE*, glutathione-S-transferase *AtGSTF11*, expansins *NtEXPA1*, *NtEXPA5*, *PnEXPA3* and *AtEXPA10*, xyloglucan endotransglycosylases *PtrXTH1* and *NtEXGT*. Seeds of transgenic plants were germinated on Murashige and Skoog nutrient medium with the addition of the antibiotic hygromycin in «Binder» climate chambers (Germany) at a photoperiod of 16/8 hours, a temperature of +25 °C and an illumination of about 140 micromoles per square meter/sec. After 20 days, the seedlings were transferred to vegetation vessels with «Geolia» universal soil. Watering of plants was carried out 2 times a week. 2 weeks after transplanting into the ground, when the plants had acclimatized, DNA was isolated from them using CTAB to confirm their transgenicity by the marker genes hygromycin phosphotransferase (*HPT*) and β-glucuronidase (*GUS*), as well as the target transgene. A sample of 200 mg of each sample was ground in a micro-tube with 800 µl of 2×CTAB buffer, then incubated in a «Thermit» thermostat (DNA Technology, Russia) at 60 °C for 60 min. Then it was cooled in the refrigerator at 5 °C for 5 min, 600 µl of the chloroform:isoamyl alcohol (24:1) mixture was added and was shaken in an «Intelli Mixer RM-1 L» (SIA «ELMI», Latvia) for 20 min. Next, it was unscrewed in a 5430 R centrifuge («Eppendorf», Germany) at 12000 rpm for 2 min, 400 µl of the supernatant was taken, to which 400 µl of cooled isopropyl alcohol was added. The mixture was incubated for 20 min in a freezer at –20 °C, and then centrifuged for 15 min at 12000 rpm. Next, isopropyl alcohol was drained and the precipitate was washed with 80% ethyl alcohol, which was subsequently dissolved in 30-50 µl of sterile water. To test the transgenicity of plants, primers were used for the *HPT* gene: 5'-CTACACAGCCATCGGTCCAGA-3'/5'-ATCGTTATGTTTATCGGCACTTTG-3' and the *GUS* (*uidA*) gene: 5'-TGTGGAATTGATCAGCGTTGGTG-3'/5'-AAGCCGACAGCAGCAGTTTCATC-3'. The amplicon size for the *HPT* gene was 789 bp, and for the *GUS* gene it was 989 bp. The reaction took place in 30 µl of PCR solution with the addition of 0.1 µg of DNA and 1 unit of Taq DNA polymerase according to the scheme: initial denaturation for 3 min at 94 °C, 35 amplification cycles at a) denaturation – 94 °C, 40 sec, b) annealing – 59 °C, 40 sec, c) elongation – 72 °C, 60 sec. The final elongation was carried out for 5 min at 72 °C. The obtained amplicons were detected using agarose gel electrophoresis. 2 months after acclimatization to the soil conditions, the tobacco plants began to move to the flowering stage and were used for hybrid crossing. In order to cross the plants, the female specimens had flowers that had not had time to open and which had a protruding stigma of the pistil, while they had unripe pollen in the anthers, which were mechanically removed to prevent the possibility of self-pollination. Fully opened flowers with ripe pollen in the anthers were taken as males. The cross-pollination of transgenic plants among themselves took place according to the scheme: ripe pollen from the anthers from the male plant was applied using a synthetic brush to the stigma of the flower of the female plant and the pollinated flower was wrapped with food film to prevent other pollen from entering the stigma. A month later, fully matured seeds after artificial pollination were collected to produce tobacco plants of the T1 generation expressing two transgens simultaneously.
Results: During the experiments, 40 transgenic tobacco plants acclimatized to soil conditions were created with eight studied genes, from which DNA was isolated and the presence of *HPT* and *GUS* genes was confirmed. The presence of target *ARGOS-LIKE*, glutathione-S-transferase *AtGSTF11*, expansins *NtEXPA1*, *NtEXPA5*, *PnEXPA3* and *AtEXPA10*, xyloglucan endotransglycosylases *PtrXTH1* and *NtEXGT* genes was also confirmed in the same transgenic plants. Pairs of plants carrying the following target genes were selected for artificial crossing: *AtGSTF11* × *ARL*, *NtEXPA1* × *PtrXTH1*, *NtEXGT* × *NtEXPA5*, *PnEXPA3* × *AtEXPA10*. Artificial pollination of these transgenic plants was carried out and seeds of T1 generation descendants were obtained, which will be analyzed for the presence of both transgenes in one plant organism by PCR.
Conclusions: Transgenic tobacco plants overexpressing two target genes simultaneously can contribute to a greater degree of expression of a valuable trait: yield, resistance to abiotic factors, etc. The created tobacco plants with two transgens can also be used in basic research, since the functions of *ARGOS-LIKE*, glutathione-S-transferases, expansins and xyloglucan endotransglycosylases remain poorly understood.
Funding: The study was performed within the framework of the state assignment No. 1022040500031-4.

doi 10.18699/PlantGen-2025-243

Gene coexpression for stimulating regeneration in *Medicago truncatula*

A.V. Brynchikova[1]*, V.Y. Simonova[1], E.A. Potsenkovskaia[1], V.E. Tvorogova[2], L.A. Lutova[2]
[1] *Sirius University of Science and Technology, Sirius Federal Territory, Krasnodar region, Russia*
[2] *St Petersburg University, Saint Petersburg, Russia*
* *annbv19@gmail.com*

Motivation and aim: Somatic embryogenesis is used in tissue culture in the process of plant transformation and also in order to accelerate plant breeding. The WOX family proteins play a significant role in this process, as they are involved in the growth and development of plants. There are also NF-Y complex proteins which participate in the regulation of different aspects of plant development, including regeneration. NF-Y is a transcription factor composed of subunits A, B, and C, making it a heterotrimer. We previously demonstrated that the MtWOX9-1 protein stimulates somatic embryogenesis, whereas the MtNF-YB10 protein as well as other proteins from the NF-Y group also participate in this process in *Medicago truncatula*. Our goal is to identify combinations of genes from *WOX* and *NF-Y* groups that stimulate regeneration in *M. truncatula*.
Materials and methods: Genetic constructs for coexpression of *MtWOX9-1* and different *MtNF-Y* genes were created using Golden Gate method. Embryogenic (R108) and non-embryogenic (108-1) *Medicago truncatula* lines were transformed by the AGL1 strain of *Agrobacterium tumefaciens* using the modified AGROBEST protocol. *MtNF-YB3* gene was edited using the CRISPR/Cas9 system. Protein interactions were assessed using yeast two-hybrid system.
Results: At this stage of the research, genetic constructs for co-expression of *MtWOX9-1* and different *MtNF-Y* genes were introduced into *Agrobacterium tumefaciens,* and we plan to transform the non-embryogenic 108-1 line with these constructs to assess their ability to induce somatic embryogenesis. It was also found that according to the yeast two hybrid analysis MtWOX9-1 interacts with some proteins from the NF-YA, NF-YB and NF-YC families. Constructions encoding for chimeric proteins including MtWOX9-1 and MtNF-Y protein, are also checked for their ability to stimulate somatic embryogenesis.
Recently, we have shown that *MtNF-YB10* loss of function is not detrimental to plant development, although it significantly inhibits somatic embryogenesis. To further study and compare the functions of *MtNF-YB10* and its closest homolog, *MtNF-YB3*, we are obtaining a plant line with loss of *MtNF-YB3* function.
Conclusions: The MtWOX9-1 protein was found to interact with several different NF-Y proteins in yeast cells. At present, constructs for co-expression of *MtWOX9-1* and different *MtNF-Y* genes, as well as constructs encoding for chimeric proteins consisting of MtWOX9-1 and NF-Y proteins are obtained. Their capacity for stimulation of somatic embryogenesis is under investigation.
Funding: The study is supported by the project from the Sirius University of Science and Technology: PBB-RND-2243.

doi 10.18699/PlantGen-2025-244

The use of digital phenotyping technologies to study the effects of beneficial microorganisms in plant breeding, genetics and biotechnology

S.A. Bursakov*, P.Yu. Kroupin, D.Yu. Litvinov, M.S. Bazhenov, A.A. Kocheshkova, P.N. Kharchenko, G.I. Karlov, M.G. Divashuk

All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology, Moscow, Russia

** sergeymoscu@gmail.com*

Motivation and aim: To discuss opportunities and prospects and to highlight the application of digital phenotyping technologies to assess the effectiveness of the phytobiome of epiphytic and endophytic beneficial microorganisms in plant biotechnology.

Materials and methods: The study includes articles, reviews and patents published mainly in the last twenty years.

Results: One of the tools of information technology, digital phenotyping is playing an increasingly important role in agriculture, allowing rapid assessment of individual plant phenotypes using a variety of information devices. These include, our available digital phenotyping systems TraitFinder 3D PlantEye Dual Scan scanner (Phenospex, Netherlands), iRay AT61P4FSHT thermal imager and MUSE-9HS hyperspectral camera (Spectricon, Greece). The digital phenomics strategy includes end-to-end measurement of phenotypic traits, which allows to understand the dynamic interactions between plants and microorganisms, from phyllosphere architecture and morphology to water and nutrient transport mechanisms. The use of these systems is a powerful tool for understanding the complexities of plant-microorganism interactions, both in terms of nutrient uptake and utilization, general assessment of health and disease susceptibility, and elucidation of breeding performance. They become especially important in the conditions of accelerated breeding under speed breeding technology. The relative confinement of space in climatic chambers and the focus on rapid completion of each generation cycle, modulate biotic and abiotic stress factors affecting physiological, biochemical and molecular processes of growing plants. Incorporating effective beneficial microorganisms that reside in both above- and belowground plant parts, as well as within and on the plant surface, is a pressing issue in intensive crop biotechnology. Plant-associated microorganisms play a critical role in plant tolerance by increasing plant resistance to abiotic and biotic stresses, promoting nutrient uptake and improving plant health. They can stimulate growth, development, control water balance, promote general adaptability and rapid plant maturation, and prevent disease. Utilization of the positive effects of beneficial microorganisms will improve and accelerate agricultural production and breeding technologies, in particular speed breeding, which has not been discussed in the literature so far. The controlled practical use of microorganisms under speed breeding conditions should contribute to programmable results. In addition, this approach opens new avenues in biotechnology for the production of plant secondary metabolites. The utilization of plant microflora will require accurate measurement and monitoring in a multifactorial soil-plant-atmosphere-microorganism system using digital phenotyping and under the control of artificial intelligence. Thus, the present work aims to highlight the development of phenomic approaches used to understand plant-microorganism interactions, including visualization technologies, the use of various sensors, and deep data analysis. New technologies will help to understand the functional role of beneficial microorganisms in plant physiological processes, nutrient transport and uptake at the cellular and tissue levels. In addition, the integration of genomic, transcriptomic and metabolomic information with phenomics will provide a holistic approach to understanding plant-microbial symbiosis and suggest new strategies to improve yields, including under speed breeding conditions.

Conclusions: The practical use of effective beneficial microorganisms becomes an urgent task of modern research and requires appropriate attention. Our findings and previous experience allow us to consider digital phenotyping technologies as a convenient and effective tool for analyzing the performance of the beneficial phytobiome and assessing plant health. The application of phenomics can be a powerful tool for identifying microbial strains and plant genotypes that are best suited for sustainable agriculture under strictly defined conditions.

Funding: The research was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, State Assignment FGUM-2025-0010.

doi 10.18699/PlantGen-2025-245

Advancing plant telomere-to-telomere genome research with PlanT2T

H. Chao, Z. Wang, M. Chen*
Department of Bioinformatics, College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China
** mchen@zju.edu.cn*

Telomere-to-telomere (T2T) genome assemblies provide previously unsequenced regions such as telomeres, centromeres, and repetitive sequences. This advancement marks a significant milestone in plant genomics research. However, four years after the release of the first plant T2T genome, their adoption remains limited. We identify several contributing factors:

1 Insufficient Functional Annotation: T2T genomes often lack comprehensive functional annotations compared to traditional genomes, hindering their utility for researchers.

2 Limited Accessibility: Approximately 29.12% of T2T genomes are not readily accessible post-publication, and about 65.93% available in public databases (e.g., GWH, Figshare, Zenodo, GitHub) lack real-time query and interactive features.

3 Absence of a Centralized Research Community and Specialized Tools: There's a notable lack of a centralized, active plant T2T genome research community to drive studies forward, coupled with a scarcity of tools specifically designed for T2T genome analysis.

To address these challenges, we have developed PlanT2T (https://bis.zju.edu.cn/plant2t/), an integrated platform offering:

1 Enhanced Structural and Functional Annotations: Each T2T genome is thoroughly annotated, including predictions of telomere and centromere positions, gap analysis, BUSCO and GC-content assessments, transcription factor and regulator predictions, protein function insights (GO, KEGG), structural domain identifications, physicochemical property analyses, structural predictions, and OrgDB construction.

2 Interactive Genome Pages: PlanT2T features over 180 interactive genome pages enriched with extensive omics data, allowing users to upload, analyze, browse, access, and share genomic information seamlessly.

3 A Suite of Analytical Tools: The platform includes more than ten online analysis tools, ranging from conventional utilities like BLAST, JBrowse, GO, and KEGG enrichment analyses, to proprietary algorithms for telomere and centromere identification. By providing an easy-to-use, comprehensive platform, PlanT2T overcomes the barriers to the widespread adoption of T2T genomes in plant research, making it a valuable resource for the plant genomics community.

doi 10.18699/PlantGen-2025-246

Development of speed breeding protocols for cereal crops

A.G. Chernook*, A.O. Blinkov, D.O. Bizyakina, A.G. Marenkova, A.A. Lappo, V.M. Nagamova, A.S. Zelenina, V.A. Korobkova, N.Yu. Svistunova, S. Radzeniece, A.A. Kocheshkova, M.G. Divashuk
ARRIAB – All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology, Moscow, Russia
** irbis-sibri@yandex.ru*

Today, a variety of molecular genetic and biotechnological approaches exist that can streamline certain stages of the breeding process. However, despite advancements in modern genetic techniques, the time required to develop promising cereal varieties from crossing to propagation can still take 10 to 15 years. Most agricultural crops have lengthy growth periods, which significantly impacts the rate at which new varieties can be developed. Research focused on the phenotypic manifestations of new genes is often conducted using model plants, such as Arabidopsis, due to their rapid growth and development. However, the findings from these studies do not always translate effectively to agricultural crops, as the effects of a gene can vary unpredictably in different plant species. Recently, speed breeding technology has gained prominence as a potential solution to the lengthy duration of the breeding process. The core principle of speed breeding involves utilizing physiological factors that shorten the time from sowing to flowering, reduce the generative stage of development, and overcome post-harvest dormancy, thereby minimizing the time required to grow a single generation. This method, which aims to reduce the vegetative period of plants to just two months, enables the production of six consecutive generations of spring cereals within a single year. The objective of this study is to develop speed breeding protocols for various cereal crops.

Materials and methods: Promising varieties and lines of spring bread wheat, durum wheat, barley, and spring triticale included in the collections were utilized as plant material. The plants were grown in artificial climate rooms (Climbiotech phytotrons) and climate chambers (Weiss Technik), which allow for the adjustment of various plant growth parameters. A comparison of the efficiency of plant growth was conducted based on the following parameters: photoperiods of 22 hours of light and 2 hours of darkness, and 16 hours of light and 8 hours of darkness. Nine different variations of light intensity were employed, ranging from 115 to 792 nm. For plant growing, a comparison was made between the use of cassettes of varying volumes and three substrate options: soil mixture, peat, and mineral wool. The degree of influence of far-red light was assessed by growing plants under three lighting conditions that differed in the ratio of radiation levels at 660 nm (R – red) and 730 nm (FR – far red), with ratios of R/FR = 3.75, 0.8, and 0.3.

Results: The earliest flowering dates for spring cereals occur under the following conditions:

1) When utilizing a photoperiod of 22 hours light and 2 hours dark, the number of days from sowing to flowering is statistically significantly reduced by 17.7 to 37 days, depending on the genotype, compared to a photoperiod of 16 hours light and 8 hours dark.

2) When employing a spectral composition of light with a ratio of R/FR = 0.3, plants come to flowering statistically significantly earlier by 3.4 to 4.3 days, depending on the genotype, compared to the control variant (R/FR = 3.75). Additionally, a negative effect of far-red light on triticale productivity has been observed.

3) When using light intensity in the range of 300 to 650 μmol/m^2/s, flowering time for durum wheat vary from 48.3 to 54.5 days after sowing, while triticale flowers between 34.4 and 38.2 days after sowing. Low light intensity results in a delay in the onset of flowering.

4) When using high-moor peat or a soil mixture as a substrate.

5) When utilizing cassettes with a cell volume of 30 to 80 ml, barley plants grown in these cassettes bloom statistically significantly earlier by 2.7 to 4.3 days, depending on the genotype, compared to plants grown in cassettes with a larger volume.

Conclusions: The development of efficient plant-growing protocols can significantly reduce the time required for a plant to fully grow and develop, allowing for the production of up to six generations of spring cereals in a single year. This advancement can shorten the time needed to develop new varieties to just 5 to 6 years. The integration of speed breeding with molecular genetics, such as DNA markers, and biotechnology techniques, such as embryo rescue, can potentially expedite the creation of new varieties with economically valuable traits.

Funding: The study is supported by Ministry of Science and Higher Education of Russian Federation FGUM-2024-0002.

doi 10.18699/PlantGen-2025-247

Guar genetic transformation: an example of how to overcome recalcitrance in legumes

L.M. Criollo*, E. Potokina
Project Center for Agro Technologies, Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russia
** Luisa.Criollo@skoltech.ru*

Motivation and aim: Plant genetic transformation is a key biotechnological tool that allows us to apply modern technologies, such as genome editing, to improve the breeding efficiency in plants. Several reports on genetic transformation of legumes agree that recalcitrance and genotype-dependence are some of the main bottlenecks affecting the regeneration and transformation efficiency. Guar (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub.) is an economically important short-day legume. In Russia, the main obstacle to its cultivation is the long photoperiod during summer, which delays flowering in guar. The implementation of genome editing technologies in guar may provide a meaningful opportunity to precisely edit genes implicated in the flowering process to improve the adaptability of the crop to a long photoperiod. However, there is not a single publication describing experiments on gene editing in this plant. Therefore, there is an urgent need to develop a protocol for guar transformation to subsequently use this protocol for guar genome editing. In this study, we used different methods of plant transformation, including *in planta* and *in vitro* approaches to obtain guar transformed seedlings.

Materials and methods: Four transformation methods were tested to obtain guar transformants, these methods include floral dip, agro-injection transformation, *Agrobacterium*-mediated transformation using cotyledonary nodes and A*grobacterium*-mediated transformation using seed embryos. For the floral dip experiment, a suspension culture of *Agrobacterium tumefaciens* harboring the plasmid pBI121 with GUS as a reporter gene was prepared as overnight culture. The culture was centrifuged and the pellet was resuspended in the infiltration medium. Subsequently, guar spikelets containing several flowers were inoculated with the *Agrobacterium* suspension. In the case of the agro-injection, the transformation was carried out by injecting the guar pods with the same *Agrobacterium* suspension harboring the plasmid pBI121. In the *Agrobacterium*-mediated transformation using cotyledonary nodes, two different media compositions were tested for regeneration. Guar cotyledonary nodes were excised from germinated guar seedlings and transferred to the preculture medium. After preculture, the cotyledonary node explants were incubated in the *Agrobacterium* suspension harboring the plasmid pBI121 and transferred to solid co-cultivation medium for 24 h. Subsequently, the cotyledonary node explants were transferred to the shoot induction medium (SIM), then to shoot elongation (SEM) and finally to the rooting medium every 15 days, respectively. In the case of the *Agrobacterium*-mediated transformation using seed embryos, a preliminary experiment was performed to select the best regeneration medium. For this purpose, the seed embryos were isolated and transferred to the two regeneration media for 21 days. Subsequently, the regeneration efficiency was evaluated and the best medium was selected for the transformation experiment. In the transformation experiment, two suspension cultures of *Agrobacterium tumefaciens* harboring either plasmid pCambia 1302 (mGFP5 as reporter gene) or pCambia 1303 (gusA and mGFP5) were prepared. The seed embryo was isolated, incubated in *Agrobacterium* suspension and transferred to solid co-cultivation medium. After co-cultivation, the explants were transferred to the regeneration medium and incubated for 8 weeks to obtain fully regenerated plants. Transformation efficiency was assessed by verifying the presence and expression of the GFP/GUS reporter genes.

Results: As result of the floral dip and agro-injection experiments a total of 723 potentially transformed seeds were obtained. Therefore, 73 seeds were selected randomly, germinated and DNA was extracted to verify the presence of the GUS gene using PCR. However, after screening none of the samples were positive for the presence of the GUS gene. In the case of the transformation using cotyledonary nodes, shoots were obtained using the two media tested. However, after 21 days on SIM medium, many of the explants with shoots showed a pale green or white coloration in some regions, which may be an early sign of hyperhydricity or albinism. After transfer to SEM this condition worsened and the shoots continued to develop with a whitish color that eventually led to oxidation of the explant. Regarding the A*grobacterium*-mediated transformation using seed embryos, fully developed plants were obtained after 8 weeks in the regeneration medium. Therefore, the regenerated guar seedlings were screened for the expression of GFP using a microscope under blue light illumination or GUS gene expression using GUS staining. In both cases, the guar seedlings showed positive results for the expression of the GFP and GUS genes.

Conclusions: The transformation recalcitrance in legumes is one of the main problems during genome editing experiments, therefore several plant transformation methods should be tested to improve the efficiency of plant regeneration and transformation. In the case of Guar, recalcitrance to genetic transformation can be overcome by using seed embryos as explants to successfully obtain transformed plants.

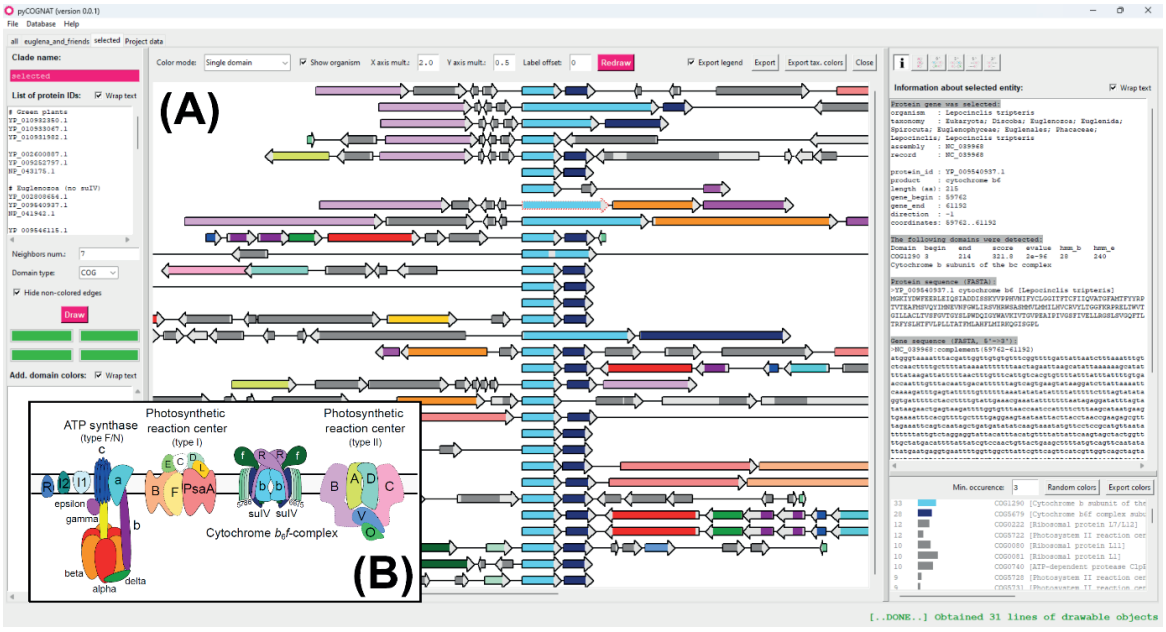
Funding: The study is supported by Russian Science Foundation grant No. 24-26-00073, https://rscf.ru/project/24-26-00073/.

doi 10.18699/PlantGen-2025-248

The pyCOGNAT approach for comparative analysis of genomes of chloroplasts and plastids

D.V. Dibrova
Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia
School of Bioengineering and Bioinformatics, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia
udavdasha@belozersky.msu.ru; dibrova.daria@yandex.ru

Motivation and aim: Chloroplasts and plastids of modern plants result from endosymbiotic events between eukaryotic host(s) and cyanobacteria. Their genomes are large compared to mitochondria, yet many genes likely undergone a transfer to nucleus. Currently more than 15,000 complete chloroplast and plastid genomes are available, with the large predominance (> 14,000) of vascular plants chloroplasts. We present here a freely available pyCOGNAT software which is suitable for comparative analysis of any set of genomic data and a precalculated database for comparative analysis of plant organelles.
Materials and methods: The pyCOGNAT software is an interactive Tkinter-based cross-platform Python script which shows annotated genomic neighborhoods for any set of genes. The results would be more illustrative however if a set of homologous genes is used. It is based on the approach which we described before (Klimchuk O.I., Konovalov K.A., Perekhvatov V.V., Skulachev K.V., Dibrova D.V., Mulkidjanian A.Y. (2017) COGNAT: a web server for comparative analysis of genomic neighborhoods. *Biol Direct*, 12(1), 26). The pyCOGNAT requires a precalculated database of correspondence between gene products and a set of protein domains (e.g. Pfam domains or COGs) which could be obtained with the additional script from results of the HMMer search (http://hmmer.org/). We have calculated this database for a set of complete chloroplast genomes which can be directly used for comparative analysis with our program. The pyCOGNAT shows genomic neighborhood of each gene as arrows and depicts the same protein domains as rectangles of the same color. **Results:** An example of the pyCOGNAT output for a set of cytochromes b_6 of plant b_6f complexes is shown in Figure. The tool is highly versatile and allows to chouse coloring scheme both interactively or through text input. It also exports graphical data as an SVG vector file.



(A) The main frame of the pyCOGNAT with a sample of cytochrome b_6 genes. The size of arrows is proportional to the length of genes and colored part on the arrows is proportional to the size of corresponding profile HMM hit on a gene product. Arrow tips are always non-colored. (B) The color code for key subunits of chloroplast photosynthetic complexes and rotary ATP synthase which is used in the panel A

Conclusions: The pyCOGNAT could be useful for comparative genome analysis of plant organelles. The source code of pyCOGNAT is freely available at https://github.com/udavdasha/pyCOGNAT. The precalculated database for plant organelles is available at http://boabio.belozersky.msu.ru/en/tools.
Funding: The study was conducted under the state assignment of Lomonosov Moscow State University. The original idea behind the pyCOGNAT was developed under support of the Dmitry Zimin “Dynasty” Foundation.

doi 10.18699/PlantGen-2025-249

Read data improvement approaches for genome assembly of non-model plant species

A. Emirsaliev[1] *, D. Afonnikov[1], I. Mitrofanova[2], E. Salina[1]
[1] *Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia*
[2] *N.V. Tsitsin Main Botanical Garden of Russian Academy of Science, 127276 Moscow, Russia*
* *emirsaleh@bionet.nsc.ru*

Motivation and aim: Assembling genome of non-model plant species is often challenging because of large size of nuclear genome, high repetitive content, varying ploidy levels, high heterozygosity and absence of high-quality genomic or transcriptomic data for close relatives. The challenges are compounded by limited resources that restrict sequencing depth and technology choices. The genus *Crepis* L. combines a group of species with heavily studied karyology, possessing relatively large genomes, but the nuclear genomes of species derived from this group were not yet analyzed in a whole-genomics context. We have sequenced the genome of rare *Crepis* species from the peninsula of Crimea – *Crepis callicephala* Juz.

Materials and methods: We sequenced a total DNA from fresh leaves of C. callicephala *in vitro* plantlets using two different platforms: Illumina paired-end sequencing with 150 cycles and long-read nanopore sequencing with r9.4.1 flow-cells (Oxford Nanopore Technologies). Using short reads with approximately 50× coverage and ~6× coverage by long reads, we tested different approaches in genome assembling. To improve the dataset with stronger long-read coverage, we involved duplex nucleotide calling, redundant dataset creation, multi-assembler processing followed by genome reconciliation and multi-stage hybrid error correction. For duplex calling, we first identified reads corresponding template and complement strands of the same initial molecule using duplex_tools, and then performed rebasecalling incorporating data from both strands. The duplex reads were coupled with their complements and added to normal basecalled reads, thus expanding the high-quality fraction. So-called "SuperRead" data produced by MaSuRCA hybrid assembler were also added to the read set. The assembly produced by Flye was iteratively scaffolded by Samba and chromo_scaf followed by correction with long reads by medaka and short reads by NTEdit. The genome obtained was briefly annotated with EviANN. The BUSCO completeness scores of genome and predicted transcriptome were assessed with BUSCO v6 and odb_Embryophyta_v12 orthologs database subset.

Results: Using short read data, we predicted nuclear genome size as 1.41 Gb (Jellyfish-GenomeScope2 estimation) or 1.36 Gb (MaSuRCA prediction). Using either single-technology data or combined short- and long-read data failed to produce an assembly with genome sizes close to the expected values 1.36 and 1.41 Gb. The BUSCO scores were also very low. Read improvement strategies transformed assembly outcomes without additional sequencing. Duplex calling on the 8 Gb ONT r9.4.1 dataset yielded approximately 0.12 Gb of ultra-high-accuracy reads, which served as reliable seeds for assembly despite representing a small fraction of the original data volume. The redundant dataset approach proved particularly effective in resolving repetitive regions producing highly fragmented assemblies, but with total sizes close to expected values. Iterative scaffolding improved the assembly contiguity by nearly twofold, reducing the number of contigs from 236 to 163 k. The 73 Gb of Illumina PE 150 data (~50× coverage) proved most valuable not for direct assembly but for iterative improvement of long reads, leading to 85.1% BUSCO score compared to 82.7% in draft.

Conclusions: Our study argues that computational read improvement can in some cases be as valuable as additional sequencing for assembling complex non-model plant genomes. The multi-faceted approach shows that the same sequencing data can yield dramatically different outcomes depending on processing strategies. Key outcomes may include:

1. Duplex calling should be standard practice for all ONT datasets, especially in case of older chemistries (previously possessing ~80% accuracy), as well as rebasecalling of previous long-read data should be considered as a good practice.
2. Creating redundant, differently-processed read datasets better captures genomic complexity than single optimal processing.
3. Multi-assembler approaches with reconciliation outperform single-assembler optimization if the assembler fails with the data available.

These approaches are particularly valuable for non-model species where sample availability, funding, or technical constraints limit sequencing options. The computational cost of read reprocessing is minimal compared to additional sequencing rounds, making these strategies accessible to small research groups. Approaches discussed in the study facilitates obtaining a draft genome assembly and could assist in decision on what kind of data to be resequenced is yet still needed for "clean" result.

Funding: The work supported by the budget project No. FWNR-2022-0017.

doi 10.18699/PlantGen-2025-250

Lipoxygenase system under phytohormones and hypoxia in dicotyledonous plants, varietal and interspecific differences

A.N. Ershova*, N.V. Kolesnik
Voronezh State Pedagogical University, Voronezh, Russia
** profershova@mail.ru*

Motivation and aim: Clarification of lipoxygenase's role in ROS accumulation under hypoxic stress and impact of kinetin and 24-epibrassinolide phytohormones on these processes in pea and soy plants and revealing lipoxygenase functioning in different varieties of soy seedlings under stress.
Materials and methods: 10-day-old seedlings of dicotyledon pea (*Pisum sativum* L.) and soy (*Glycine max* L.) plants hydroponically grown under 12 h photoperiod and +22 °C served as study objects. Aerial part of plant was placed in dark conditions for 3–24 h in different gas media. To investigate impact of kinetin and 24-epibrassinolide, these phytohormones were preliminary inserted by transpiration stream (10 mg/l). LOX activity was determined in tissue homogenate or mitochondria spectrophotometrically by accumulation of hydroperoxides under λ = 234 nm with linoleic acid as a substrate. Enzyme activity was calculated in EU/mg of protein which content was determined by Lowry. Isolation of mitochondria was done by differential centrifugation method. Presence of mitochondrial LOX was determined by native PAGE electrophoresis. LOX localization was conducted by specific development method with presence of hydroperoxides of linoleic acid and cadmium iodide. Experiments were run in 3 biological and 2 chemical repetitions. Obtained data was processed by Excel software package using descriptive statistics method.
Results: Lipoxygenases (EC 1.13.11.12) catalyze oxidation of polyunsaturated higher fatty acids free and bounded in phospholipids with hydroperoxyl derivative formation launching a chain of free radical processes (FRP) in cells. LOX participate in fruit ripening, plant production storage and used in a range of biotechnological processes. Also, LOX play an important role in plant adaptation to stress including hypoxia. Our research showed that LOX activity in soy seedlings (variety "Belgorodskaya 48") was 30% higher compare to pea seedlings (variety "Ramonsky 77"). Under hypoxic stress the LOX activity was increasing in intolerant pea seedlings up to 400% while in more tolerant soy only up to 60% during first 3–6 h of hypoxia and then decreasing in both plants. It was shown that input to hydroperoxide accumulation was given by not only cytoplasmic but also mitochondrial form of LOX which activity was increasing by nearly 80% in first hours of hypoxia in pea seedling and only by 45% in more tolerant soy seedlings and later was decreasing. Abiotic stresses is a main barrier for agriculture development which induce yield decrease. To reduce stress impact the phytohormones acting on levels of metabolic processes and genes activity got involved. Our experiments showed that plant treatment by phytohormone kinetin decreased activity of mitochondrial LOX of pea seedlings in all test variants. Yet in a greater degree it was representative for plants exposed to hypoxic stress when activity of mitochondrial LOX was nearly two times lower. Preprocessing by phytohormone 24-epibrassinolide suppressed LOX activity three-fold in first hours of experiment and by 50% at the end of exposition. Obtained data confirms an important role of phytohormones in plant adaptation processes to hypoxia at a level of plant cells enzyme systems including LOX.
Over the last years was shown that there are not only interspecies but also varietal special aspects of cultivated plants for metabolite content and stress tolerance. However varietal aspects of cultivated plants responsiveness under stress factors are better studied for cereal crops (rice, wheat). Thus, LOX activity in soy seedlings of early-maturing varieties "Belgorodskaya 48", "Pisanka" and "Vyshivanka" recommended for Central region of Russia were analyzed. It was noted that in plants of "Belgorodskaya 48" LOX activity was increasing by 120–175% and in "Vyshivanka" by 215% in first 3–6 h of hypoxia. In soy plants of "Pisanka" no increase of LOX activity under all durations of hypoxic stress was noted. Obtained data was correlated with FRP speed we o *Conclusions* bserved earlier by iron-induced chemiluminescence method for these varieties.
Conclusions: Overall results confirm existence not only species differences but also varietal aspects of soy reactions on FRP and LOX activity process levels which can be used in sort selection processes for specified growth environments. Application of phytohormones kinetin and 24-epibrassinolide allows to affect the speed of ROS formation which is important for tolerance increase to stress for dicotyledon plants and specifically soy due to its acreage growth driven by breeding of northern ecotype varieties.

doi 10.18699/PlantGen-2025-251

Analysis of recent polyploid gene evolution on the example of *Capsella bursa-pastoris* (Shepherd's Purse)

D.R. Ganaeva*, A.M. Kasianova, A.V. Klepikova, M.D. Logacheva, A.A. Penin
Vavilov Institute of General Genetics, RAS, Moscow, Russia
** ganaeva.dasha@gmail.com*

Motivation and aim: Polyploidy is a common mode of speciation in plants that increases genetic diversity and contributes to ecological adaptations. The majority of flowering plant lineages have undergone one or more rounds of polyploidization. Moreover, important crops such as bread wheat, canola, cotton, coffee and others are allopolyploids. Therefore, it is necessary to build understanding on the consequences of polyploidy for gene evolution and content. One of the plant model organisms suitable for such research is *Capsella bursa-pastoris* (Shepherd's Purse) – an annual self-pollinating allotetraploid plant from the Brassicaceae family that emerged 100–300 thousand years ago. In this study we aimed to shed light on the mechanisms of *C. bursa-pastoris* gene evolution upon polyploidization.
Materials and methods: DNA-sequencing data corresponding to different populations of *C. bursa-pastoris* and its parent species *C. orientalis*, *C. rubella*, *C. grandiflora* were analyzed. These samples were collected from diverse climate zones all over the world. The analysis included such steps as orthologization of parent species genes, read quality control and trimming, mapping, calling, as well as gene presence-absence variation analysis and functional annotation.
Results: Orthologous genes were identified for parental species. The genome sequencing data of *C. orientalis* and *C. rubella/grandiflora* were used to select core genes which are present in all parental populations. Next, homeologs corresponding to the core parental genes were studied in different populations of *C. bursa-pastoris*. Reduced genes were identified, as well as patterns of mutation accumulation.
Conclusions: Gene reduction events in *C. bursa-pastoris* upon polyploidization were studied. Analysis of synonymous, non-synonymous mutations, frameshifts, and emergence of stop-codons was conducted. System gene evolution patterns of recent polyploid *C. bursa-pastoris* were identified.
Funding: The study was supported by Vavilov Institute of General Genetics, project No. FFRW-2024-0003.

doi 10.18699/PlantGen-2025-252

Selection of wheat-emmer lines with naked colored grains using molecular markers

E.I. Gordeeva*, O.Yu. Shoeva
Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia
** elgordeeva@bionet.nsc.ru*

Motivation and aim: Wild relatives of modern wheat, such as emmer, carry many beneficial traits related to nutritional value and grain quality. These genetic resources can be used as invaluable assets for wheat improvement. The advent of sequencing technology and the development of molecular breeding methods based on the decoding of the primary wheat genome sequence allow these genomic resources to be effectively used for the development of new varieties. At the same time, there are no any hard tetraploid cultivated wheat (*Triticum turgidum* L., $2n = 4x = 28$, BBAA), which grains can be produced anthocyanin's in Russia.

Materials and methods: The modern white-grained and naked spring emmer variety Gremme with good yield was selected as a recurrent parent. Purple-grained hulled wheat-emmer hybrids, inherited of purple color genes from the tetraploid wheat *Triticum aethiopicum* Jakubz., coming from the Abyssinian region in Ethiopia were obtained by us earlier. Plants were selected visually based on the nakedness of grains during threshing.

In wheat, these important for human health compounds can accumulate in the pericarp, giving the grains a purple color. Their biosynthesis is controlled by complementarily interacting *Pp3* and *Pp-1* genes on chromosome 2A and on chromosome 7A or 7B or 7D, respectively. By decoding the primary sequence of the regulatory genes *Pp*, the intragenic allele-specific diagnostic markers for the dominant alleles of *Pp3* / *TaMYC1* (Patent No. 2774444, Russian Federation State Register of Inventions.) and *Pp-1* / *TaMYB* to hexaploid bread wheat were designed using the PrimerQuest™Tool. Using the NCBI database (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/), the MultAlin software (http://multalin.toulouse.inra.fr/ multalin), the primary DNA sequence of the *Pp3* gene in bread wheat, six 261-nucleotide tandem repeats were identified in the promoter of the dominant allele, tissue-specifically activating the expression of structural genes for the synthesis of anthocyanins in the pericarp of the grain, while only one such repeat was found in the recessive allele of white-grained wheat varieties. After decoding the primary DNA sequence of the *Pp1* gene in bread wheat, differences within the first exon and first intron of the gene between the dominant and recessive alleles were revealed. These allele-specific diagnostic markers amplified PCR products of different lengths and, together with microsatellites linked to genes *Pp,* were used for selection of the tetraploid wheat plants with dominant alleles. During the work, the use of SSR markers in the selection did not provide reliable linkage with the target genes, which was especially evident in the selection of the *Pp-1* gene on chromosome 7B. On the contrary, the use of molecular intragenic markers made it possible to accurately select samples with target genes. In the F_2 and F_3 progenies, after crossing white naked emmer variety Gremme with the purple-grained wheat-emmer hybrids, containing the dominant alleles of the *Pp-1*and *Pp3*, naked purple-grained plants accumulating high anthocyanins content in grains were selected.

Conclusions: As a result, after molecular genetic selection, the collection of spring purple-grained naked wheat-emmer lines were created. The obtained lines contain functional working genes that trigger the biosynthesis of anthocyanins in the pericarp of the grain, and were easily threshed. This collection will serve as the basis for the selection of spring hard wheats of the Siberian region with high anthocyanin content.

Funding: The study is supported by RSF No. 25-26-20157, https://rscf.ru/project/25-26-20157/.

doi 10.18699/PlantGen-2025-253

Comparative analysis of the evolutionary dynamics of alternative splicing in *Arabidopsis thaliana* and *Solanum lycopersicum*

A.M. Kasianova[1, 2]*, A.V. Klepikova[2], M.D. Logacheva[1, 2], A.A. Penin[2]
[1] *Center for Molecular and Cellular Biology, Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russia*
[2] *Vavilov Institute of General Genetics, Moscow, Russia*
* *albidgy@gmail.com*

Motivation and aim: Alternative splicing plays a key role in the formation of transcriptomic and proteomic diversity in plants. Previous studies have demonstrated that it regulates essential biological processes, including growth, development, and adaptation to environmental conditions. Despite this, its evolutionary dynamics remain largely unknown. The aim of this study is to determine the evolutionary dynamics of alternative splicing in *Arabidopsis thaliana* and *Solanum lycopersicum*.
Materials and methods: We conducted a comparative analysis of alternative splicing in *A. thaliana* and *S. lycopersicum*. Isoforms for both species were reconstructed from ONT long-read sequencing data using our previously developed tool FLIC (https://github.com/albidgy/FLIC). The consistency of structural isoform features was assessed across genes grouped into orthogroups based on sequence homology.
Results: First, we assessed the relationship between the mean intron length, mean exon length, and the number of splice sites across species. The results indicated that the number of splice sites is conserved, whereas intron and exon lengths vary significantly between species. Next, the neighborhood of splice sites was examined, identifying conserved sites present in both species. We also analyzed the origin of unique splice sites to determine whether their sequence context occurs elsewhere within isoform structures of another species. Finally, the relationship between the presence of unique splice sites and isoform expression profiles was evaluated, based on the assumption that expression patterns are indicative of the biological function of genes.
Conclusions: Our study demonstrates that the number of splice sites and their surrounding regions are conserved between *A. thaliana* and *S. lycopersicum*. These features remain stable despite variations in intron and exon lengths, suggesting the evolutionary stability of the regulation of splicing. Our findings highlight the important role of conserved splicing mechanisms in the evolution of genes.
Funding: The study was supported by Vavilov Institute of General Genetics, project No. FFRW-2024-0003.

doi 10.18699/PlantGen-2025-254

MASRUSPLANTS v3.0: an updated web resource of DNA markers for marker-assisted selection of rust resistance genes in cereal crops

V.N. Kelbin*, E.S. Skolotneva, E.A. Salina
Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia
** kelbin.biolog@gmail.com*

Motivation and aim: Cereal crops, which are the most important agricultural resource in Russia, thrive in a variety of environmental and climatic conditions. Throughout its life cycle, cereal crops encounter numerous stressors that negatively impact yield and compromise grain quality. Among biotic threats, rust fungi (*Puccinia* spp.) are among the most aggressive pathogens of cereal crops — bread wheat (*Triticum aestivum* L.), durum wheat (*T. turgidum* L. var. *durum*), barley (*Hordeum vulgare* L.), triticale (× *Triticosecale* Wittm. ex A. Camus), oats (*Avena sativa* L.), rye (*Secale cereale* L.) and other globally cultivated crops. Under favorable environmental conditions, these pathogens can multiply rapidly, causing significant economic losses. Genetic resistance represents the most efficacious and sustainable agricultural strategy for mitigating the impact of rust pathogens. Implementation of this approach necessitates the integration of molecular breeding techniques, including marker-assisted selection and genomic editing, to engineer novel cereal crops cultivars exhibiting pyramided resistance mechanisms.

Materials and methods: Accurate molecular identification of resistance genes is a critical and accelerated process in modern breeding programs, serving as an integral component of crop improvement strategies. To systematize genomic resources for molecular breeding, we present an expanded version of the MASRUSPLANTS database (v3.0), which now integrates curated data on DNA markers associated with molecularly confirmed rust resistance genes. The updated platform, accessible at https://masrusplants.ru, provides an online database to advance precision breeding initiatives and optimize the introduction of resistance genes into cereal crops.

Results: The main goal of the MASRUSPLANTS v3.0 database aims to ensure wide availability of the marker-assistant selection (MAS) technology for scientific and agro-industrial communities, which will accelerate the development of resistant varieties based on genomic predictors. The MASRUSPLANTS v3.0 database systematically compiles detailed genomic data on molecular markers and their associated resistance genes, including *Sr* (stem rust resistance), *Lr* (leaf rust resistance), and *Yr* (stripe rust resistance) genes. Each marker entry is annotated with comprehensive metadata, encompassing marker classification, chromosomal localization, primer sequences, standardized PCR amplification protocols, and bibliographic references. One of the key introductions is the expansion of data on each resistance gene presented in the database.

The information on genes is now divided into several groups:
I. General characteristics;
II. Origin and source;
III. Chromosomal localization;
IV. Molecular genetic markers;
V. Resistance characteristics;
VI. Application in breeding;
VII. Databases and key studies.

Additionally, some groups include subgroups. For example, group V (Resistance characteristics) is further categorized into Resistance type, Efficiency, Phenotype, and Limitations. Furthermore, all DNA markers cataloged within the database have undergone experimental validation at the Laboratory of Plant Molecular Genetics and Cytogenetics, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (IC&G SB RAS), and the empirical testing has been confirmed by original electropherograms.

Conclusions: The database architecture is organized into four primary ontological entities: molecular protocols, chromosomal maps, marker loci, and cultivated varieties/breeding lines. Functional linkages between these entities are designed to facilitate efficient navigation and integration of data pertaining to molecular markers and their corresponding disease resistance genes.

Funding: The study is supported RSCF No. 21-76-30003-П.

doi 10.18699/PlantGen-2025-255

Identification of non-standard effects in phenotypic analysis

V. Kharchenko
Luhansk Voroshilov State Agricultural University, Lugansk, LNR, Russia
** viktoriakharchenko@rambler.ru*

Motivation and Aim: To describe the phenotypic effects of plants, it is proposed to use a standardized, more or less, description of the plants. Researchers focus on different aspects of plant phenotypes. The phenotypic variability of mutants of *Arabidopsis thaliana* is most studied, but can we create a universal standard for describing the phenotype of the plant? The analysis of non-standard phenotypic effects in *tfl1-2* and *ap1-1* mutants in *A. thaliana* prompted us to consider the *TERMINAL FLOWER1* (*TFL1*) and *APETALA1* (*AP1*) genes as antagonists. Since it is assumed that *TFL1* determines the identity of the inflorescence meristem and the *AP1* gene determines the identity of the flower meristem. Despite the fact that gene *TFL1* is expressed during flower meristem formation too. The aim of this study was to elucidate the reasons for this paradox based on a detailed analysis of the phenotypic variability of flower and inflorescence morphogenesis in *A. thaliana, apetala 1-1* (*ap1-1*) and *terminal flower1-2* (*tfl1-2*) mutant lines.
Methods and Algorithms: The studies were conducted on plants of *A. thaliana*, the line *Landsberg erecta* (L*er*) and the mutant lines *apetala 1-1* (*ap1-1*) and *terminal flower1-2* (*tfl1-2*) synthesized on its genetic basis. Seeds for the studies were obtained from the European Arabidopsis Storage Centre. Plants were cultivated at +20–23 °C, under 24-hour illumination from 6000 to 800 lux in the light culture laboratory of Lugansk State Agrarian University and the Botanical Garden of the Institute of the Far East Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok.
Results: The single terminal flower is a rare but standard trait for *A. thaliana* of the original line L*er* and mutant lines *ap1-1* and *tfl1-2*, because it is formed in all plants of these lines, but the frequency of its formation is different and depends on cultivation conditions.
Conclusion: The inflorescence is a common transformation series that includes all flowers, regardless of their position on the inflorescence axis. The *TFL1* and *AP1* genes are not antagonists; they complement each other's action. *AP1* regulates the separation of flower organs, while *TFL1* regulates the number of flowers in the inflorescence and their density on the inflorescence axis.

doi 10.18699/PlantGen-2025-256

Genomic technologies for generating abiotic stress tolerance grapevine (*Vitis vinifera* L.) plants

P. Khvatkov[1]*, E. Vodiasova[1], V. Timerbaev[1, 2], G. Maletich[1], I. Gavrilenko[1], A. Sinchenko[1], S. Chelombit[1], A. Pushin[2], S. Dolgov[1, 2]

[1] *Nikita Botanical Garden – National Scientific Centre of RAS, Yalta, Russia*

[2] *Branch of Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Puschino, Russia*

** khvatkov1987@gmail.com*

Grapes are one of the economically most important crops, which ranks first in the world in terms of production among fruit and berry crops and seventh among all agricultural crops. Significant changes have taken place in the field of molecular breeding in recent years: genetic plants modification has become a practical technology, and transgenic plant cultivars now occupy more than 170 million hectares of agricultural land. At the same time, such an important crop for world agriculture as grapes turned out to be practically unaffected by modern trends in genomic modifications. The regeneration of individual transgenic plants from single transformed cells is a requisite for stable genetic transformation. In grapevine, a reliable method to accomplish this is through the induction of somatic embryogenesis. However, due to the high genetic diversity, the physiological aspects of the induction of somatic embryogenesis in different grape varieties can vary significantly. To date, most work on genetic transformation or CRISPR/Cas9 genome editing is based on a reliable and simple protocol for the regeneration of Thompson Seedless grape variety. With regard to vine grape varieties, most publications report about of transformation of the Chardonnay cultivar. Despite decades of work by scientists around the world, there is still no universal protocol or stably reproducible individual embryogenesis protocols even for the main commercial grape varieties. Our research team has made significant progress in the somatic embryogenesis and bioengineering of a number of commercial grape varieties of importance to the global wine industry. The developed transformation system appears to be suitable for application to other *V. vinifera* cultivars.

16 transgenic lines of grapevine containing genes encoding proteins with a cold shock domain (*CspA* and *EsCSDP3*) were obtained as a result of useng of developed transformation system. As a result of the studies, it was shown that the expression of the gene *Escsdp3* from the plant of *Eutrema salsugineum* is able to increase the cold and frost resistance of plants as effectively as the *cspa* gene from *E. coli*, which is classically used for this purpose. The cold resistance of transgenic lines was increased by 4 °C compared to the control cultivar.

Funding: This study was supported by the Russian Science Foundation Grant No. 23-76-10013.

doi 10.18699/PlantGen-2025-257

The selection of target genes for detection of plant impurities in feeds

N.A. Kirsanova[1]*, A.N. Bogomazova[1, 2], A.S. Pirsikov[1]
[1] *The Russian State Center for Animal Feed and Drug Standardization and Quality (VGNKI), Moscow, Russia*
[2] *Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of FMBA of Russia (Lopukhin FRCC PCM), Moscow, Russia*
* *n.kirsanova@vgnki.ru*

During the analysis of domestic and foreign literature, fragments of constitutive genes and Lime elements were selected for the detection of plant impurities in feed. Constitutive genes are expressing almost all tissues and cells at a relatively constant level. Diversity in expression of any reference genes is not constant and in different experimental environments can vary greatly, so the choice of genes is a necessary stage of the experiment, the use of reference genes widely used in modern research requires a prior assessment of gene stability. In the laboratory of Eurofins Genomic Europe, the actin gene is using for plant identification. A significant disadvantage of its use is the short conservative region of this gene, which leads to the selection of degenerate primers or the use of another gene for internal control. The plant ingredients of greatest interest are soy, corn, and rice due to the frequent occurrence of genetically modified events. In European techniques, the target genes for soybean are *lec* (lectin), *ADH* (alcohol dehydrogenase), *Sus4* (sucrose synthase 4), and *APX2* (ascorbate peroxidase 2) genes, for maize – *ADH1* (alcohol dehydrogenase), *hmga* (high-mobility protein group), *ivr1* (invertase1), *zein* (zein) genes, for canola – *BnACCg8* (acetyl-CoA carboxylase), *PEP* (phosphoenolpyruvate carboxykinase), *FatA* (gene encoding an enzyme involved in fatty acid biosynthesis), *HMG-I/Y* (high-mobility group of proteins I/Y), *CruA* (cruciferin A) genes. In GMO testing the techniques of «The Russian State Center for Animal Feed and Drug Standardization and Quality» use *lec* (lectin), *ADH1* (alcohol dehydrogenase) and *hmga* (highly mobile protein group), *CruA* (cruciferin A) genes for the detection of soybean, corn and rapeseed, respectively. Another gene that can be used as an internal control is the PCNA (proliferating cell nuclear antigen) gene. This protein is found in all plant cells and is highly conserved. The third possible version is the use of Lime elements (long identical multispecies elements). There are elements that in the process of evolution moved from the plastid genome (chloroplasts, mitochondria) to the nuclear genome. In plastids they acquired polymorphisms, while in the nucleus they are ultraconservative. Accordingly, when they are used as internal controls, there should be no cross amplification with mitochondrial DNA sequences. Thus, in the future, these elements can be used in our work.

doi 10.18699/PlantGen-2025-258

Molecular mechanisms regulating protein and gluten accumulation in grain of spring *vs* winter wheat

A.A. Kiseleva*, A.V. Fedyaeva, A.I. Stasyuk, I.N. Leonova, E.A. Salina
Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia
** antkiseleva@bionet.nsc.ru*

Motivation and aim: Common wheat (*Triticum aestivum* L.) breeding programs prioritize the development of high grain protein content (GPC) varieties, as GPC directly enhances milling efficiency and end-use quality. Additionally, the composition and quality of wheat grain storage proteins, particularly gluten, critically determine the functional properties of flour. Despite this, the molecular basis of protein and gluten accumulation in wheat grains remains insufficiently understood, especially in the context of genetic differences between spring and winter varieties. The aim of this study is to investigate the allelic variation of key genes regulating these traits, identify novel molecular markers, loci and candidate genes, associated with protein and gluten content, and perform a comparative analysis of them in spring versus winter wheat varieties.

Materials and methods: The study utilized a panel of 93 spring and 179 winter wheat varieties, representing diverse genetic backgrounds from domestic and international breeding programs. Plants were cultivated under field conditions across two contrasting environments for 2–3 growing seasons to account for genotype-by-environment interactions. Grain protein and gluten content were quantified using an infrared analyzer (OmegAnalyzer G, Bruins Instruments, Germany). SNP genotyping was conducted with the Illumina Infinium 15K/25K Wheat Array (TraitGenetics, Germany). Genome-wide association mapping was performed using the GAPIT R package (v.3.0) with multiple models, including MLM, FarmCPU and BLINK, to minimize false positives. Significant loci were annotated using the IWGSC RefSeq v.1.1 genome assembly (GrainGenes database), and candidate genes within these loci were prioritized based on tissue-specific expression profiles at key developmental stages, analyzed via the expVIP platform. For the most significant SNPs, KASP markers were designed and verified in a biparental population.

Results: Genome-wide association analysis revealed distinct chromosomal loci associated with protein and gluten accumulation in spring and winter wheat. In the spring wheat panel, most significant markers for grain protein content (GPC) were localized on chromosome 6A ($p < 0.001$), while gluten content showed associations across chromosomes 1D, 2A, 2B, 3D, 5A, 6A, 7B, and 7D. For winter wheat, 27 markers linked to GPC and 24 to gluten content ($p < 0.001$) were identified, with the strongest signals on chromosomes 4A and 2D. Two candidate genes, *TraesCS4A02G235900* (4A) and *TraesCS2D02G517200* (2D), were prioritized based on their expression profiles and functional annotations. Allelic variation at the *NAM-A1* locus significantly impacted GPC, with varieties carrying the NAM-A1d allele showing lower protein content compared to *NAM-A1c/a* carriers ($p < 0.01$), consistent across both growth types. Gluten content was strongly associated with the *Glu-A1* locus: varieties harboring the Ax0 subunit exhibited an increase in gluten levels relative to other alleles.

Conclusions: The chromosomal distribution of loci differed between spring and winter wheat, suggesting divergent genetic regulation of these traits. This comparative analysis highlights potential targets for marker-assisted selection in breeding programs focused on grain quality improvement.

Funding: The study is supported by the RSCF No. 21-76-30003-П.

doi 10.18699/PlantGen-2025-259

iTraVA: transcriptome map of *Arabidopsis thaliana* alternative isoforms

A.V. Klepikova[1]*, A.M. Kasianova[1, 2], T.A. Isaeva, M.D. Logacheva[1, 2], A.A. Penin[1]
[1] *Vavilov Institute of General Genetics, RAS, Moscow, Russia*
[2] *Center of Molecular and Cellular Biology, Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russia*
* *annklepikova@gmail.com*

Motivation and aim: Splicing is a key event in mRNA maturation. Alternative isoforms play crucial role in the development and environmental interactions of both animals and plants. Alternative isoforms differ between organs, tissues and developmental stages, guiding their functional differences. The understanding of splicing complexity in plants is far from complete. Thus, we aimed to create a comprehensive isoform-based transcriptome map across a variety of *Arabidopsis thaliana* tissues and present it in a new public database iTraVA: isoform Transcriptome Variation Analysis.

Materials and methods: 29 samples of *A. thaliana* organs and tissues in normal conditions and under various stress treatment were collected and subjected to cDNA sequencing on Oxford Nanopore Technologies platform. Isoforms expressed in each sample were reconstructed using FLIC tool developed in the laboratory. Isoform properties were extensively studied.

Results: We created an isoform-based transcriptome map covering 29 samples of *A. thaliana*. In total, more than 158 thousand isoforms were detected in the whole transcriptome map belonging to 20 thousand genes. The majority of isoforms had predicted ORF longer than 30 a.a. We found that the median number of isoforms per gene was seven considering the whole amount of data, and varied between two and four in individual samples. As FLIC detects transcription start sites (TSSs) and polyadenylation sites (PAs) as regions we analyzed the distributions of TSS and PA length and found them to be bimodal. We explored alternative splicing events both across the whole map and in individual samples and analyzed the difference between genes with certain types of events as well as the inequality of TSS and PA usage. We found that in many cases isoforms had more narrow expression patterns than their corresponding gene. The structure and expression levels of reconstructed isoforms were presented in the newly developed database iTraVA.

Conclusions: We created an isoform-based transcriptome map of *A. thaliana* and explored isoform properties in greater detail. Our transcriptome map is available in the database iTraVA.

Funding: The study was supported by Vavilov Institute of General Genetics, project No. FFRW-2024-0003.

doi 10.18699/PlantGen-2025-260

Evaluation of color and texture characteristics of cereal grains by SeedCounter application

E.G. Komyshev[1]*, M.A. Genaev[1, 2], D.A. Afonnikov[1, 2]
[1] *Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia*
[2] *Kurchatov Genomic Center of the Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia*
* *komyshev@bionet.nsc.ru*

Motivation and aim: Evaluation of grain coat characteristics is an important task, since they are associated with a number of important biological functions: moisture absorption, grain viability, resistance to pre-harvest germination. The coloration of the grain shell in cereals is due to the content of various metabolites and pigments such as carotenoids, anthocyanins, and melanins. The presence of pigments in the shell affects various technological properties of the grain. For example, phlobaphenes, which give red coloration to the pericarp of the grain, have a positive effect on the duration of grain dormancy and prevent preharvest germination. Also, color characteristics, as well as the appearance of the grain shell, are important indicators of plant diseases. In addition to color, grain texture is also of interest. For example, grain coat roughness in wheat is a trait that is associated with susceptibility of grains to pest damage, technological properties of grain, and moisture content. When studying the mechanisms of genetic control of certain grain traits, breeders and geneticists face the need to evaluate the color and textural characteristics of their shells. Thanks to improvements in digital technology, the quality of color reproduction and detail on modern camera models, including smartphones, is getting better and better, which allows us to estimate the characteristics of plant organs with high accuracy. The previously developed SeedCounter application has shown its practical usefulness in morphometry of wheat and barley grains. The updated version includes an expanded set of computable features, support for new imaging protocols and an updated interface for the mobile version.
Methods and algorithms: The new version of the application implemented the calculation of color characteristics of grains, which include: average intensity values of color channels and dominant color descriptor. The computation of texture features based on the Gray Level Co-occurrence Matrix (GLCM) and the Gray Level Run-length Matrix (GLRM) was also implemented. It is important that color and texture features are computed taking into account grain image masks, because when computing features on a rectangular area, background pixels can introduce significant distortions in the computed features due to the small size of grains and their ellipsoidal shape. In addition, support for various image capture protocols, such as using a standard-size sheet of paper and ColorChecker Mini Classic (https://calibrite.com/us/product/colorchecker-classic-mini), is implemented.
Results: The updated version of the SeedCounter application was used to analyze red-grained winter soft wheat accessions. The evaluations made it possible to compare genetic variations of the studied accessions, color characteristics of grains and their resistance to preharvest germination. Based on our method, it was shown that variations in color shades (blueness and lightness) exist in red-grain varieties. As a result, 26 loci associated with grain color traits (including new ones) were identified along with twelve loci associated with preharvest germination resistance traits. In addition, wheat grain images of the International Triticeae Mapping Initiative (ITMI) population including 116 genotypes (1740 images) were analyzed. Analysis of the textural characteristics of the collection showed significant differences between individual genotypes (Synthetik_R93, Opata, ITMI_11, ITMI_103, ITMI_115, ITMI_42, ITMI_62, ITMI_82, ITMI_88) in terms of such characteristics as: mean, homogeneity, uniformity, and correlation.
Conclusions: The updated SeedCounter application expands the possibilities for determining color and textural characteristics of cereal grains. Color traits can be useful to investigate the content of pigments and metabolites in the grain coat, such as carotenoids, anthocyanins, melanins. Textural attributes may be useful for evaluating grain surface characteristics such as roughness. Realized color features allow the detection of subtle differences in grain hues even between samples having the same color type. This approach allows the identification of loci associated with color traits. The SeedCounter application allowed the identification of new loci controlling grain color traits independent of the preharvest germination resistance trait. The analysis of textural traits demonstrated that in the ITMI soft wheat population there is grain diversity in terms of grain coat roughness, which can be detected and analyzed based on the proposed algorithms for grain texture evaluation.
Funding: The work is supported by budget project No. FWNR-2022-0020.

doi 10.18699/PlantGen-2025-261

Systemic control of legume-rhizobia symbiosis: functional studies of key regulators using overexpression and CRISPR/Cas9-mediated gene editing approaches

M.A. Lebedeva*, D.N. Rubtsova, V.A. Petrenko, L.A. Lutova
Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia
** m.a.lebedeva@spbu.ru*

Motivation and aim: Legumes enter into symbiosis with soil bacteria rhizobia to satisfy their nitrogen demands: they form symbiotic nodules on the roots, where rhizobia fix atmospheric nitrogen to make it available for plants. Since symbiotic nodule development and maintenance is energy-consumed process, host plants regulate the number of symbiotic nodules depending on the nitrogen needs of the whole organism – at the systemic level. CLE peptides are key players of systemic control of legume-rhizobia symbiosis. CLE peptides are produced in the root in response to nodulation and are capable of long-distance transport along the xylem to the shoot, where, when binding to specific receptors, these peptides trigger a signaling response that suppresses further development of symbiotic nodules on the roots. Our research focuses on the role of MtCLE35 in systemic control of nodulation in *Medicago truncatula*, as well as two target genes activated by MtCLE35-induced signaling pathway: the *MtTML1* (*TOO MUCH LOVE 1*) and *MtTML2* genes.

Materials and methods: We used overexpression and CRISPR/Cas9-mediated gene editing approaches to study the role of MtCLE35 and *MtTMLs* genes in symbiotic nodulation. For *MtCLE35*-overexpressing roots, we performed transcriptomic study to find out mechanism of MtCLE35-mediated inhibition of nodulation. Several lines with *MtCLE35* and *MtTMLs* gene knock-out have been obtained via CRISPR/Cas9-mediated gene editing.

Results: Expression of *MtCLE35* increased both in response to rhizobia and nitrate treatment. Overexpression of *MtCLE35* completely blocked symbiosis with rhizobia. According to transcriptomic and qPCR data, MtCLE35-mediated inhibition of nodulation was accompanied by increased expression levels of defense-related genes in *MtCLE35*-overexpressing roots. Moreover, the *MtTML1* and *MtTML2* genes were upregulated in *MtCLE35*-overexpressing roots. TMLs are known to encode F-box-proteins acting as inhibitors of nodulation. However, their targets have not been found yet. We generated several lines with CRISPR/Cas9-mediated *MtCLE35* gene knock-out, and found that mutant lines with loss of *MtCLE35* function demonstrated increased number of nodules in comparison to wildtype line, when grown in the presence of nitrate. Moreover, we obtained lines with *TML*s knock-out, which also had increased number of symbiotic nodules.

Conclusions: Therefore, our data demonstrate that MtCLE35 regulates number of symbiotic nodules systemically and mediates nitrate-dependent inhibition of nodulation. MtCLE35-induced signaling pathway affects early steps of legume-rhizobia symbiosis, resulting in enhanced defense response in rhizobia-inoculated roots. *TML*s transcripts are accumulated in response to MtCLE35-induced signaling pathway. Several lines with *MtCLE35* and *MtTMLs* gene knock-out have been obtained via CRISPR/Cas9-mediated gene editing, which form increased number of symbiotic nodules. Therefore, *CLE* and *TML* genes are good candidates for CRISPR/Cas9-mediated gene editing in order to increase symbiotic efficiency in agronomically important legumes, which, in its turn, should help to increase protein yield and overall productivity in legume crops.

doi 10.18699/PlantGen-2025-262

Assessment of genetic divergence of *Brassica juncea* breeding lines for yield traits under rainfed conditions

M.A. Malik[2], Z. Akram[1]*, T. Hussain[2], G. Shabbir[1], G. Qadir[1]
[1] *PMAS-Arid Agriculture University Rawalpindi Pakistan, Shamsabad, Punjab, Pakistan*
[2] *Barani Agricultural Research Institute, Chakwal, Pakistan*
* *zahid.akram@uaar.edu.pk*

Motivation and aim: This study investigates the genetic divergence in *Brassica juncea* (Indian mustard) for yield-related traits under rainfed conditions. The rationale behind the study was to assess the magnitude of genetic diversity among the breeding lines concerning improvement in yield potential, particularly under water-scarcity conditions.
Materials and methods: Field experiments were conducted at the Barani Agricultural Research Institute (BARI), Chakwal, Pakistan, during two consecutive Rabi seasons 2022–23 and 2023–24. Twenty-seven genotypes, including two checks, were evaluated in a randomized complete block design with three replications. The study investigated phenological and morphological characteristics like days to germination, flowering, maturity, plant height, branch count, seed pod numbers, and grain yield.
Results: In most of the traits studied, the genetic variance was significant, indicating presence of high genetic diversity among the studied brassica genotypes. It also showed significant variation among genotypes for days to germination, days to flowering, and number of seed pods. The study also revealed that some traits, such as pods per plant, showed increased genetic variation over the two seasons, demonstrating the dynamic nature of genetic traits in response to environmental conditions. Such variation confirms the possibility of selecting high-yielding lines suitable for rainfed conditions. Furthermore, correlation analysis further established crucial relationships among key traits, particularly the inverse relationship between early flowering and maturity, which can be leveraged to develop faster-maturing crops. The research demonstrated that identifying traits with high heritability, such as plant population and secondary branches, is vital for breeding programs targeting rainfed environments.
Conclusions: The results provided a basis for climate-resilient, high-yielding *Brassica juncea* cultivars that could thrive well under rainfed conditions to enhance agricultural productivity under deteriorating climatic conditions.

doi 10.18699/PlantGen-2025-263

Experimental evolution reveals temperature-dependent phenotypic and genomic changes in *Verticillium alfalfae*, the causative agent of alfalfa Wilt

A.R. Meshcherov[1]*, A.S. Baik[1], S.V. Boldyrev[1], L. Gentzbittel[1, 2], C. Ben[1, 2]
[1] *Project Center for Agro Technologies, Skolkovo Institute of Science and Technology, Skoltech, Moscow, Russia*
[2] *Centre de Recherche sur la Biodiversité et l'Environnement (CRBE), Université de Toulouse, CNRS, IRD, Toulouse INP, Université Toulouse 3 - Paul Sabatier (UT3), Toulouse, France*
** Azat.Meshcherov@skoltech.ru*

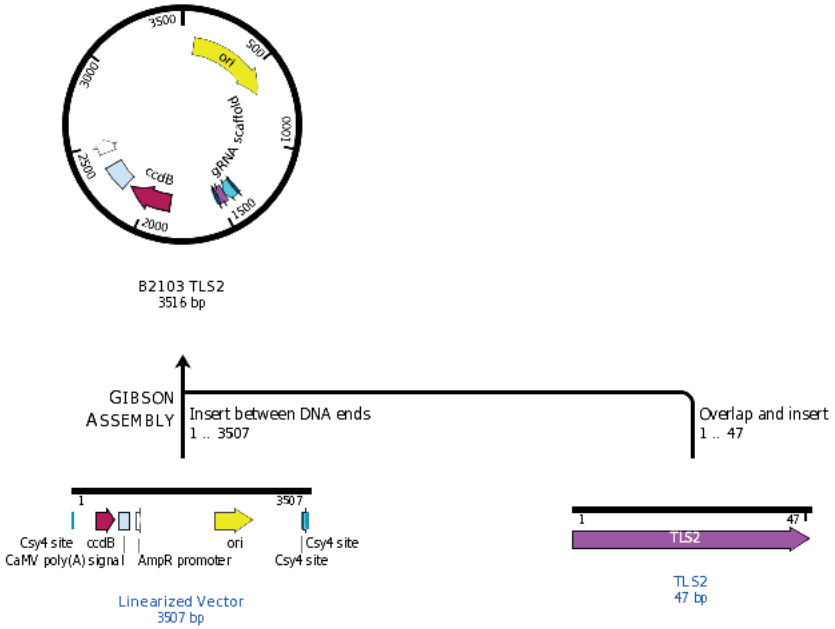
Motivation and aim: *Verticillium* wilt is a destructive soil-borne disease affecting diverse crops from vegetables to trees, causing severe yield losses and reducing the quality of agricultural products. The disease is caused by various *Verticillium* fungal species, which differ in host specificity and environmental adaptability. Among these, *Verticillium alfalfae* is a key pathogen of the major forage crop, alfalfa (*Medicago sativa*), and its wild relative *Medicago truncatula*. Our previous studies revealed that *V. alfalfae* exhibits remarkable thermal adaptation capabilities, with temperature shifts significantly influencing its virulence (Sbeiti et al., 2023). To further investigate this phenomenon, we conducted an artificial evolution experiment, generating a collection of warm-temperature-adapted mutant strains. The primary objective of this study is to characterize the phenotypic and genetic diversity within this adapted collection, providing insights into the mechanisms underlying thermal adaptation and its impact on virulence.
Materials and methods: Wild-type *V. alfalfae* strain was exposed to UV irradiation and selectively propagated for enhanced pathogenicity into increased temperature condition using a susceptible *M. truncatula* genotype three times. After third round of mutagenesis monosporal temperature-adapted mutants were isolated and phenotyped for virulence across *M. truncatula* accessions with varying resistance levels. From these, a set of 23 mutant strains with different virulence was established for in-depth phenotypic characterization, including morphological traits (colony growth, sporulation rate) and extracellular enzymatic activities linked to virulence (lipase, protease, cellulase, polygalacturonase). To identify genetic underpinnings of observed diversity, whole-genome sequencing was performed on the 5 most contrasting mutant strains using a dual-platform approach (Oxford Nanopore for long-read; Illumina for short-read). High-quality genomes were analyzed for SNPs and candidate mutations associated with thermal adaptation and virulence.
Results: The selected 23 representative mutant strains (plus wild type) showed significant variation in sporulation rate and extracellular enzymatic activity, particularly in cellulase and polygalacturonase production. Whole-genome sequencing of four contrasting mutants and the wild type using a dual-platform approach (Illumina/Oxford Nanopore) generated high-quality assemblies, enabling identification of SNPs in genes related to fungal metabolism and vesicular transport that likely contribute to the observed thermal adaptation and virulence changes.
Conclusions: Our study demonstrates that temperature elevation acts as an evolutionary force, driving significant alterations in fungal virulence. Through comprehensive phenotypic characterization of warm-adapted *V. alfalfae* mutants, we identified distinct profiles in morphological traits (colony growth, sporulation rate) and virulence-related enzymatic activities (lipase, protease, cellulase, polygalacturonase). Whole-genome analysis revealed candidate SNPs potentially responsible for these adaptive changes, providing the first genetic insights into thermal adaptation in this pathogen. These findings establish a critical foundation for predicting how climate change may influence *Verticillium* wilt epidemiology. Moving forward, we will expand our analysis to the complete collection of 180 temperature-adapted strains, enabling genome-wide association studies to systematically identify genomic loci underlying thermal adaptation and virulence – key knowledge for developing climate resilient crop protection strategies.
Funding: not applicable.

doi 10.18699/PlantGen-2025-264

Increasing the mobility of Cas9 transcripts, delivered by viral vectors

E.V. Mikhaylova[1, 2]*, L.R. Khakimova[1, 2], E.A. Khusnutdinov[1], M.Y. Shein[1], M.P. Terekhov[1]
[1] *Institute of Biochemistry and Genetics, UFRC RAS, Ufa, Russia*
[2] *Ufa State Petroleum Technological University, Ufa, Russia*
* *mikhele@list.ru*

Motivation and aim: Regeneration from explants is one of the biggest technical bottlenecks in genome editing of agricultural crops. Elite lines often resist tissue culture, and it can take years to optimize conditions for successful regeneration *in vitro*. Delivery of CRISPR/Cas components using virus-derived vectors is a new, rapidly developing area of research in the field of genome editing. But plant viruses rarely infect the germline, so they usually aren't passed to the next generation via seeds. Therefore, existing approaches for virus-induced genome editing (VIGE) also require tissue culture step. This problem could be overcome by increasing the mobility of the Cas nuclease via making a fusion protein with mobility-related signal.
Results: A literature study has shown that two types of mobility-related signals are used in plant genome editing: Flowering Locus T (FT) and the tRNA-like structure (TLS). FT is a small protein which travels through the phloem from the leaves to the shoot apical meristem, where it activates flowering genes. TLS motif mimics the shape and features of a tRNA, and is present in many RNAs that move through the phloem. In VIGE they were previously fused only to gRNA scaffolds, and not Cas proteins, probably due to the limited cargo size of the viruses. However, successful grafting of crop shoots onto roots of a model plant expressing mobile Cas and gRNA, resulting in genome-edited seeds, suggests that this approach may be suitable for generating transgene-free genome-edited crops. New vectors with larger cargo capacity have also been proposed recently, including geminiviral and bunyaviral vectors.
Our aim was to fuse either FLT or TLS motifs to both Cas9 and gRNA scaffold in BeYDV vector (Addgene plasmids # 91120, #91013 and #91061) and TSWV vector (Addgene plasmids # 196325 and # 196296). Vectors were linearized by PCR, and the mobility-related sequences were cloned after Cas9 stop codon and after gRNA scaffold using Clon Express MultiS One Step Cloning Kit (Vazyme, China) as shown on Figure.



Cloning of a TLS motif into B2103 vector

The resulting vectors were cloned to *A. tumefaciens* strain EHA105, and then agrofiltrated into tobacco leaves. Our preliminary results show that Cas9 tanscripts can be discovered in other leaves, far from infiltration site. Further experiments will be carried out with gRNA targeting the PDS gene of different crops.
Funding: This research was funded by RSF, grant number 24-76-10065, https://rscf.ru/project/24-76-10065/.

doi 10.18699/PlantGen-2025-265

In vitro studying the photoperiod effect on morphophysiological and biochemical parameters of *Cotinus coggygria* Scop. and cherry rootstock VSL-2 microshoots

I.V. Mogilevskaya
Federal Scientific Centre of Agroecology, Complex Melioration and Protective Afforestation of the Russian Academy of Sciences, Volgograd, Russia
** mogilevskaya-i@vfanc.ru*

Motivation and aim: The study of the photoperiod duration's effect on changes in morphophysiological and biochemical characteristics of promising in agrolesomelioration and horticulture microshoots of smoke tree (*Cotinus coggygria* Scop.) and cherry rootstock Krymsk® 5 (cv. VSL-2) (*Prunus fruticosa* × *Prunus serrulata* var. *lannesiana*) *in vitro*.
Materials and methods: This study was conducted in the Laboratory of biotechnologies of the Federal Scientific Center of Agroecology of RAS, Volgograd, Russian Federation. We planted *C. coggygria* explants under different photoperiod conditions on the medium according to the protocol of Murashige and Scoog in three variants: MS without the addition of hormones (MS), with the addition of 6-benzylaminopurine at a concentration of 0.2 mg L^{-1}, and with indole-3-butyric acid at a concentration of 0.5 mg L^{-1}. VSL-2 explants were cultivated on MS medium, and with indole-3-butyric acid at a concentration of 0.5 mg L^{-1}, and with kinetin at a concentration of 0.5 mg L^{-1}. We configured six photoperiod (h) options in a VeFarm Clima 2 climate chamber (Russia) (PPFD = 40 µmol m^{-2} s^{-1} with a spectral ratio of red (R), blue (G), and green components R:G:B = 2.5:1:0.4; and the temperature of 25 ± 0.2°. After six weeks of cultivation a wide range of parameters: shoot length, multiplication factor (number of shoots per explant), root length, number of roots per explant, presence of second-order roots, number of leaves, leaf's length and width, area, leaf index (length/width of leaf), and fresh and dry weight of shoot, and the total chlorophyll in leaf plates – were fixed.
Results: We determined the effect of photoperiod and type of media on explants of smoke tree and clonal rootstock for cherry VSL-2. Multivariate analysis of variance showed the influence of both separate factors (duration of photoperiod and type of medium) and their joint positive effect on the studied objects. The predominant influence of photoperiod duration in clonal cherry rootstock VSL-2 was observed for the parameters: root length, number of leaves, leaf length and leaf area. Type of medium and photoperiod had a combined effect on shoot length, root length, the total chlorophyll content, number of roots, fresh and dry weight, and leaf width in rootstock VSL-2. Multivariate analysis of variance of the photoperiod effect on the *C. coggygria* explants showed that the combination of the photoperiod duration and the type of medium had an effect on all the parameters studied. Individually, the photoperiod duration did not affect the chlorophyll content, and the type of medium did not affect the leaf plates area and leaf index.
Conclusion: In the explants of *C. coggygria*, the combination of increased photoperiod and the addition of indole-3-butyric acid hormone had a positive effect on the development of the upper part of shoots *in vitro*. The maximum percentage of rooted explants with a developed root system was obtained at a photoperiod of 8/16 h. The results of the effect of photoperiod duration on explants will contribute to the improvement, namely the acceleration of micropropagation of *C. coggygria* and clonal rootstock VSL-2 under LED light *in vitro*.
Funding: The study is supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the framework of the State Task No. 125021402244-3.

doi 10.18699/PlantGen-2025-266

BZIP transcription factors as negative regulators of secondary cell wall formation in plant fibers

N. Mokshina[1]*, O. Gorshkov[1], A. Lem[2], T. Gorshkova[1]
[1] *Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia*
[2] *Kazan Federal University, Kazan, Russia*
* *ne.mokshina@gmail.com*

Motivation and aim: Plant cell walls play a crucial role in growth and development by protecting plants from environmental stress and facilitating directed growth. They are generally categorized into two types: primary walls, which are dynamic structures that support the expansion of growing plant cells and are essential for plant morphogenesis, and secondary walls, which are formed after cell expansion and provide structural support and rigidity. Secondary walls make up the majority of a plant's biomass and are primarily composed of cellulose, hemicelluloses, and lignin. Plant fiber form quite remarkable cell walls, especially as many fiber crops, including flax, depositing an additional layer – a tertiary cell wall, also called the G-layer. The distinguishing features of such cell walls are high cellulose content, axial orientation of cellulose microfibrils, the virtual absence of xylan and lignin, and presence of rhamnogalacturonan I having a special structure and properties. The transcriptional network consisting of master transcriptional switches and their downstream transcription factors (TFs) that regulate secondary cell walls biosynthesis in plant fibers is well established, while TFs regulate tertiary cell wall deposition are not known. We performed transcriptome profiling of phloem flax fibers at different stage of development and revealed the upregulation of expression of a number of genes encoding TFs of different families, including the BZIP44 TF. To establish the possible role of BZIP44, we used the Arabidopsis *nst1nst3* mutants, which lack secondary cell wall in fascicular fibers. These mutant plants are convenient models for investigation of phenotypes induced by expressing TFs of unknown function driven by the NST3 promoter, which is specific for xylary fibers.
Materials and methods: *Arabidopsis thaliana* ecotype Columbia-0 and the *nst1nst3* double mutants were transformed with constructs containing ATBZIP44 under the control of NST3 promoter and fused to strong transcriptional activation (VP16) or inhibition domains (SRDX). The phenotypes of the obtaining transgenic plants were analyzed using light microscopy. The expression of a set of genes encoding key TFs involved in secondary cell wall formation was analyzed using qPCR. Transcriptome analysis of the inflorescence stems of transgenic lines was also performed.
Results: Transformation of the *nst1nst3* mutants by NST3::ATBZIP44_SRDX induced recovery of cell wall deposition in interfascicular fibers. In the reconstructed thickened cell wall in interfascicular fibers of NST3::ATBZIP44_SRDX (*nst1nst3* background), the distribution of cellulose and xylan was similar to that of the wild type, while in Arabidopsis plants Col-0 transformed by NST3::ATBZIP44_VP16, a reduction of secondary cell walls in interfascicular fibers was observed, and the phenotype of these transgenic plants resembles the *nst1nst3* phenotype. The observed phenotype changes were confirmed by gene expression analysis using qPCR. Downregulation of genes involved in the biosynthesis of cellulose, lignin and xylan was revealed in wt_NST3::ATBZIP44_VP16. The expression pattern of the analyzed genes was very similar to that of the *nst1nst3* mutants. Conversely, in *nst1nst3* mutant plants transformed by NST3::ATBZIP44 with the repressor SRDX, upregulation of genes involved in secondary cell wall development occurred. TFs associated with secondary cell wall formation in interfascicular fibers were suppressed in wt_NST3::ATBZIP44 (NST1,2,3 and SDN2, 3), while the TFs involved in vessel elements formation (VND6 and VND7) did not change their expression. In *nst1nst3*_NST3::ATBZIP44_SRDX plants, the upregulation of the NST2 was revealed. The gene for WRKY12 known as a negative regulator of NST2 was not affected in the ATBZIP44 transgenic plants. Since VP16 chimeric constructs activate expression of target genes and SRDX constructs act as suppressor of target gene expression, the obtained data suggest that ATBZIP44 activates an unknown inhibitor (except WRKY12) that usually is not expressed in Arabidopsis inflorescence stem tissues; this inhibitor suppresses secondary cell wall formation in wt_NST3::ATBZIP44 transgenic plants. Suppression of the proposed inhibitor in *nst1nst3* mutant plants transformed with NST3::ATBZIP44_SRDX stimulates secondary cell wall deposition, which is regulated rather by NST2 TF, but not NST1 and NST3. In the report data of transciptomic analysis for the analyzed transgenic plants will be presented as well to provide a deeper understanding of the observed phenomenon and to reveal new participants in cell wall regulation.
Conclusions: In the course of the current research work, a novel transcription factor, BZIP44, involved in thickened cell wall formation was identified. This factor acts as a negative regulator of secondary cell wall formation, but could be associated with tertiary cell wall formation since the downregulation of the secondary cell wall is required to start the deposition of the tertiary cell wall layer.

doi 10.18699/PlantGen-2025-267

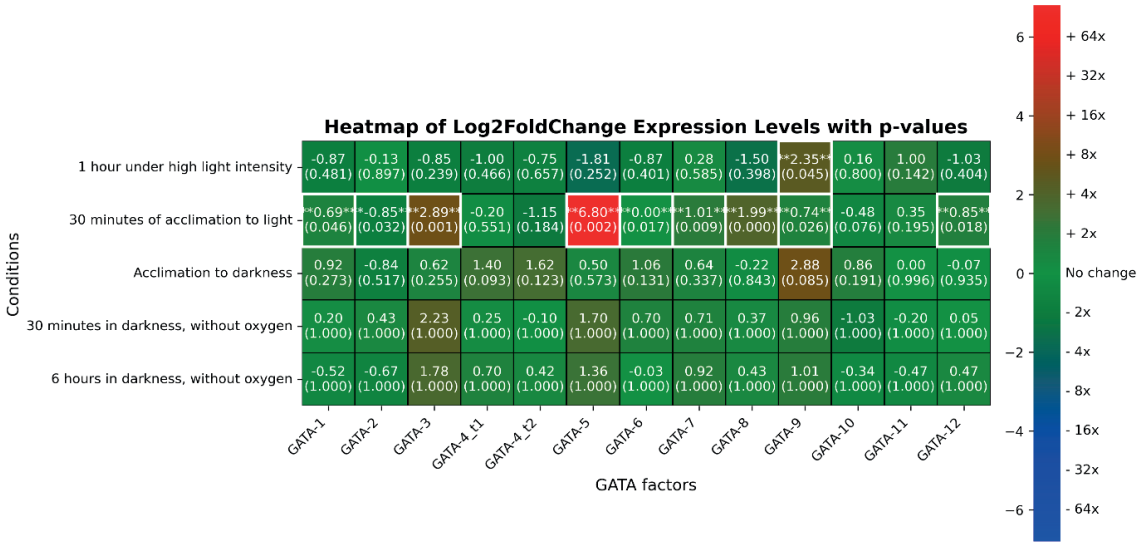
Processing of raw RNA-seq data of *Chlamydomonas reinhardtii* cells using the newly developed PipeSeq program

A.M. Nerezenko*, P.A. Virolainen, E.M. Chekunova
Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia
** alexnerezenko@gmail.com*

Motivation and aim: RNA sequencing is a common highly sensitive method for the study of the transcriptome, which allows to measure the level of gene expression. The aim of our work is to analyze the expression of genes encoding GATA family transcription factors (GATA TFs) in green alga *Chlamydomonas reinhardtii*, a model object of photosynthesis genetics. To determine the direction of our further studies, we analyzed the mass of raw RNA-seq data available in public databases. The development of a software tool allowed us to automate the time-consuming process of RNA-seq data processing and analysis.

Materials and methods: Available RNA-seq data from the NCBI database were used to analyze the expression of 12 GATA-coding genes in *C. reinhardtii* in response to various culturing conditions. Pipeline was written in Python programming language using Pandas, Matplotlib, PyQt libraries and bioinformatics tools HISAT2, SAMtools, StringTie, DESeq2. The result of the analysis is the calculation of TPM and FPKM (normalized gene or transcript expression values), and log2FoldChange (effect size estimation – the degree of change in gene or transcript expression in the experimental group compared to the control group). To assess the reliability of the obtained results, p-value is calculated using Student's t-test.

Results: To optimize data processing and reduce analysis time from 21 days to 1 day, an algorithm was developed that includes: 1) data acquisition, 2) alignment to a reference genome, 3) transcript assembly and expression counting, 4) statistical processing, 5) results visualization. Data quality checks are performed at each step of the program: reads alignment evaluation, low-quality data filtering, exclusion of duplicates and control of annotated transcripts. Output data: 1) tables with all calculated values for selected genes and conditions, 2) tables with average expression values by group, 3) log2 tables with FDR-corrected p-values, 4) heat maps illustrating gene expression by condition. An example of the resulting heat map is shown in Figure. The expression level of almost all *C. reinhardtii* GATA-coding genes changes significantly (p-value < 0.05) in response to light acclimation. Most of the publicly available packages of raw RNA-seq data of *C. reinhardtii* either did not contain data for the control group or had an insufficient number of repeats (less than three).



Heat map of *C. reinhardtii* GATA-coding genes expression in response to light conditions

Conclusions: The newly developed PipeSeq program provides full automation of RNA-seq data analysis and demonstrates reliability in the study of the *C. reinhardtii* transcriptome. The obtained results confirmed and supplemented the previously predicted functions of *C. reinhardtii* GATA TFs by other *in silico* methods. Our next step will be to complete the information on the expression of GATA-coding genes in *C. reinhardtii* in the dark conditions with our *in vivo* experiments. The successful application of our PipeSeq program opens up the possibility of its further use in the analysis of raw RNA-seq data available for other species.

Funding: The authors acknowledge Saint Petersburg State University for a research project 124032000041-1.

doi 10.18699/PlantGen-2025-268

A hairy root path for genome editing in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum*)

D.O. Omelchenko[1, 2]*, L.R. Abdulkina[1, 2], E.S. Glagoleva[1, 3], L.V. Omelchenko[1], M.D. Logacheva[1, 2]
[1] *Vavilov Institute of General Genetics of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*
[2] *Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russia*
[3] *M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*
* *omdeno@yandex.com*

Motivation and aim: Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) is a pseudo-cereal crop that belongs to the Polygonaceae family. The plant is valued for its high nutritional value and bioactive compounds, which have led to its extensive utilization in the food and pharmaceutical industries. CRISPR/Cas genome editing system provides a means to introduce precise changes in plant genome to create favorable traits in crops, thereby expediting the development of new, improved buckwheat varieties at a rate that exceeds the pace of classical breeding. However, to date, no reliable protocol have been developed for the production of gene-edited buckwheat plants. In this study, we propose a methodology for the genetic modification of buckwheat through the use of *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation and the subsequent plant regeneration from hairy root culture.

Materials and methods: This study utilized two self-pollinating buckwheat varieties, KK8 и Shinano-SC, and a cross-pollinating Design variety to investigate the process of hairy root induction and the transfer of T-DNA bearing CRISPR/Cas9 system for genome editing. The method of insulin syringe injection of the *A. rhizogenes* strain R1000 suspension in young buckwheat seedlings was employed for plant transformation due to high infectivity of this strain, as evidenced by both studies conducted by the authors and existing published literature. The binary vectors used in this study carried GFP and BAR expression cassettes for selection of transformed plants and CRISPR/Cas9 expression cassettes with single sgRNA for knockout of DFR and LFY genes for easy detection of phenotypic changes. The sgRNAs were designed using the crisprVerse R package and a high-quality KK8 annotated genome as a reference. All vectors and expression cassettes used in the study were created using plasmid modules from the MoClo Toolkit and CRISPR Plants Kit (Addgene). Calli from hairy roots of *F. esculentum* were obtained with the classical composition of MS3 medium with 2 mg/L 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid and 2 mg/L Kinetin. To induce regeneration from callus culture, the MS3 medium was supplemented with 6-benzylaminopurine (2 mg/mL), kinetin (1 mg/mL), and indole-3-acetic acid (0.2 mg/mL). Basta herbicide was added to the medium (6 μg/mL) for hairy root selection and when the first regenerant shoots appeared from the calli.

Results: The entire procedure, from transformation and hairy root culture isolation to callus induction and regeneration and subsequent acclimation of regenerated transgenic plants to soil, was initially established using a control vector carrying only GFP and BAR selectable markers. The procedure was repeated with vectors carrying CRISPR/Cas9 expression cassettes in addition to selectable markers up to the step of shoot regeneration induction from transgenic calli. The *A. rhizogenes* strain R1000 effectively transferred the T-DNA from the binary vectors into the plant genome, inducing hairy root culture growth in all three buckwheat varieties. The transgenic status of the hairy roots and regenerated plants was confirmed by Basta resistance and the presence of green fluorescent protein (GFP) fluorescence in hairy roots and calli induced from them. It is noteworthy that the fluorescence of the GFP marker gradually disappeared as the regenerants grew, even though the morphogenic calli from which they were derived was fully fluorescent and the regenerated plants still contained T-DNA based on PCR test. The success of the gene editing was confirmed in the fluorescent hairy roots by Sanger sequencing of the sgRNA target regions for the DFR and LFY genes in KK8 and Design varieties, and for the DFR gene only in Shinano SC. A notable observation is that two distinct single guide RNA (sgRNA) designed for the LFY gene each resulted in the generation of a substantial deletion (more than 250 bp) encompassing their target sites in the Design variety.

Conclusions: A protocol for genome editing of common buckwheat has been developed that involves transforming the plant with *A. rhizogenes* and producing transgenic hairy roots from which the edited plant can be regenerated.

doi 10.18699/PlantGen-2025-269

Envirotyping of spruce (*Picea abies*) geographical provenances in Russia

N.A. Pavlov*, J.P. Rojas-Bustos, E.K. Potokina, R.B. Jana
Project Center for AgroTechnologies, Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russia
** Nikita.Pavlov@skoltech.ru*

Motivation and aim: Utilizing all relevant data on the geographical provenances of Norway spruce, collected by various researchers and foresters over approximately 45 years, is essential for gaining new insights into their adaptability to changing climates. Our goal is to create a comprehensive database that includes a range of biological and economic parameters for each provenance, along with associated climatic data. We also aim to apply modern methods of analysis to uncover the genetic foundations underlying the different climatypes of Norway spruce, which have been used to establish these geographical cultures and have adapted to their environments over time. Using this database, we will develop a model to analyze the existing data and predict how these climatypes are likely to respond to ongoing environmental changes in the context of climate change.
Materials and methods: This study is based on 45 years of measurement data from Norway spruce (*Picea abies*) geographical cultures established in the late 1970s. These cultures were intended to reveal evolutionary and geographical population patterns, identify suitable seed sources for preserving and improving forest productivity, and inform forest seed zoning and breeding programs. However, many of these goals were not fully achieved, as research and maintenance were sustained by only a small group of dedicated scientists. We combine existing data from published and proprietary sources with climatic databases, satellite imagery, and other resources for comprehensive phenotypic and environmental analyses. Since nearly identical planting material was used to establish these cultures, we also genotype several preserved climatypes and add these results to our database. The resulting dataset can be used to develop machine learning and AI models in Python, aiming to uncover correlations between environmental, phenotypic, and genotypic characteristics.
Results: The study produces a predictive model that identifies correlations and underlying principles of genotype-environment interactions in Norway spruce (*Picea abies*), utilizing extensive historical data to forecast adaptation strategies under climate change.
Conclusions: These findings will inform updates to forestry policies to counteract climate-driven threats and provide science-based guidelines for sustainable management, conservation, and resilient reforestation practices.
Funding: This work is supported by a Russian Science Foundation grant, project No. 25-16-00109.

doi 10.18699/PlantGen-2025-270

Possible example of locus heterogeneity in soybean

R.N. Perfil`ev*, E.A. Salina
Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia
** PerfilyevRN@bionet.nsc.ru*

Aim: Genome-wide association studies (GWAS) have now become the standard and favored approach for identifying quantitative trait loci. However, GWAS typically detect only synthetic associations – those most strongly correlated with the phenotype – rather than causal mutations. One of the possible issues is locus heterogeneity, a situation when a locus may contain several genes, mutations in which affect the same trait. Previously, we identified the qDTF-7 locus, associated with soybean flowering, and *GmTOE1* (*TARGET OF EAT 1*) as the most likely candidate gene for this locus. In this study, we revisited the qDTF-7 locus and found that its effect on flowering time could be explained by two closely located genes, *GmTOE1* and *GmRVE8* (*REVEILLE 8*).
Material and methods: The material was a collection of 129 soybean accessions, which were studied for flowering and maturity time during 2021–2022 in the conditions of the Novosibirsk and Orel regions. We also used the genotypes and phenotypes of soybean accessions from the SoyOmics database.
Results: The late-flowering allele $GmRVE8^{fs}$ arose on the genetic background of the early-flowering allele $GmTOE1^{C}$ and apparently partially restores the effect of $GmTOE1^{C}$ on flowering time. Also, *GmRVE8* shows epistatic interaction with the main repressor of soybean flowering – the *E1* gene and *GmRVE8* is probably its negative regulator.
Conclusions: Thus, our work provides a theoretical basis for studying flowering time in soybean and may serve as another example of a heterogeneous locus in quantitative plant genetics.
Funding: This research was funded by the Russian budget project FWNR-2025-0033.

doi 10.18699/PlantGen-2025-271

Arabidopsis thaliana native and domesticated GAG protein interactions network

A.V. Polkhovskiy[1, 2]*, M.A. Yanushkevich[1, 2], I.V. Kirov[1, 2]
[1] *Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudny, Russia*
[2] *All-Russian Research Institute of Agricultural Biotechnology, Moscow, Russia*
* *polkhovsky.a.w@gmail.com*

Motivation and aim: Separate analysis of protein-protein interactions of native EVD retrotransposon GAG and domesticated copia-like dGAG proteins.
Materials and methods: *Arabidopsis thaliana* GAG:3xFLAG and dGAG:3xFLAG protein fusion overexpression lines were obtained via floral-dip agrobacterial transformation. GAG:3xFLAG and dGAG:3xFLAG proteins presence was confirmed via SDS-PAGE and Western blot analysis. Co-immunoprecipitation (Co-IP) procedure was performed in order to purify target proteins (GAG:3xFLAG and dGAG:3xFLAG) and their possible cooperators. Co-IP samples were subjected to shotgun orbitrap mass spectrometry (MS). MS data was analysed and quantified by MaxQuant tool. *In silico* analysis of protein interaction was performed via AlphaFold3 and PyMOL tools.
Results: Long Terminal Repeat Retrotransposons (LTR-RTs) are mobile genetic elements that make up a substantial fraction of the genome in most plant species. Their life cycle closely resembles that of retroviruses, involving the formation of virus-like particles composed of GAG proteins, which bind and encapsulate LTR-RT RNA. In animal cells, this process occurs within specialized organelles called retrosomes, but it remains unknown whether such structures exist in plant cells. Over evolutionary time, GAG proteins can be domesticated, acquiring new functions that benefit the host. A recent study identified an example of a domesticated GAG (dGAG) in the *A. thaliana* genome. However, comparative analyses between wild-type GAG and dGAG have not yet been conducted in plants.
In this work we obtained *A. thaliana* GAG:3xFLAG and dGAG:3xFLAG protein fusion overexpression lines which were further used for Co-IP and MS analysis. Analysis revealed dozens of co-purified proteins for both types of protein fusions including SERRATE, IIL1, HERK2, APR1, BAS1A proteins co-purified with dGAG. Later data is of great importance for understanding possible functions of domesticated RT GAG protein. Obtained results were compared with previously obtained *in silico* protein-protein interaction prediction data. We also performed comparative analysis of plant EVD GAG protein with retroviral (HIV) and other retrotransposon GAG proteins with known protein structures and key aminoacids residues responsible for GAG-GAG interaction. We used AlphaFold3 tool for EVD GAG multimer protein structures (T = 3 and T = 4) prediction. Obtained GAG protein polymers resembled known structures for HIV GAG capsid polymers. Key aminoacids responsible for HIV GAG polymer formation were also present in sites of EVD GAG-GAG interaction.
Conclusions: This study identified potential dGAG-interacting partners through Co-IP/MS analysis and validated structural similarities between EVD GAG and retroviral GAG proteins using AlphaFold3. The findings provide insights into the functional evolution of native and domesticated GAG proteins, bridging plant retrotransposons and viral systems.
Funding: This research was funded by the Russian Science Foundation, grant No. 22-74-10055.

doi 10.18699/PlantGen-2025-272

The search of somatic embryogenesis regulators in *Medicago truncatula* among the MtNF-Y family

E.A. Potsenkovskaia[1]*, V.E. Tvorogova[1, 2], L.A. Lutova[1, 2]
[1] *Plant Biology and Biotechnology Department, Sirius University of Science and Technology, Sirius Federal Territory, Krasnodar region, Russia*
[2] *Department of Genetics and Biotechnology, St Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia*
* *potsenkovskaya.ea@talantiuspeh.ru*

Motivation and aim: Somatic embryogenesis (SE) is a regeneration technique whereby plants form bipolar embryo-like structures from somatic cells that are capable of developing into new plants. SE is of great importance for plant biotechnology, where it is used to obtain artificial seeds, as a model in fundamental research, and in plant transformation as a way of regeneration. For most leguminous plants, SE initiation protocols have not been developed and regeneration as well as transformation is challenging. Initiation of SE is possible through the utilisation of morphogenetic regulators. NF-Y are conserved eukaryotic transcription factors consisting of three subunits, NF-YA, B and C. In plants, each subunit is encoded by a gene family, and combinations of different subunits can regulate different processes in plant development. The aim of our study is to identify such regulators among transcription factors NF-Y involved in legumes embryo development.
Materials and methods: We used *Medicago truncatula* as a model species and detected *MtNF-Y* genes with high expression levels during SE by qPCR analysis and analyzing transcriptomic databases. We also utilized yeast two-hybrid system to search for proteins among MtNF-YA, MtNF-YB, MtNF-YC families capable of forming protein complexes. We also used Agrobacterium transformation and *in vitro* cultivation of plant explants to evaluate SE capacity in plants with changed functions of NF-Y genes. CRISPR/Cas9 technology was implemented to obtain edited plants with gene loss of function.
Results: We identified several proteins from the MtNF-Y family that are able to form complexes during SE. Coexpression of genes from two such complexes initiates SE in a non-embryogenic *M. truncatula* line. Overexpression of one of the *NF-YA* genes increases callus mass. Plants with overexpression of a gene from the *NF-YB* family demonstrate accelerated somatic embryo development, while edited plants with loss of function of this gene have delayed embryo development.
Conclusions: Data on *NF-Y* genes involved in SE can be used to evaluate gene coexpression effects on the regeneration process in *M. truncatula* of the remaining MtNF-Y complexes and validate them as morphogenetic regulators in other legumes.
Funding: The study is supported by the Russian Science Foundation, grant No. 24-26-20117, https://rscf.ru/project/24-26-20117/.

doi 10.18699/PlantGen-2025-273

Inferring genetic basis of short-style homostyly and self-compatibility in a KK8 mutant of common buckwheat

S.R. Prokopchuk[1, 2]*, M.D. Logacheva[1, 2], M.I. Schelkunov[1, 2], A.A. Penin[2], N.N. Fesenko[3], I.N. Fesenko[3]
[1] *Center for Molecular and Cellular Biology, Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russia*
[2] *Vavilov Institute of General Genetics, Moscow, Russia*
[3] *Breeding Centre, Laboratory of Buckwheat Breeding, Federal Scientific Center of Legumes and Groat Crops, Orel, Russia*
** psr1653@gmail.com*

Motivation and aim: Buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) is an obligate cross-pollinated agricultural crop with heterostyly defense mechanism against self-pollination. It is known that heterostyly, manifested as the division of flowers in buckwheat populations into two types: those with a short pistil style and long stamens (short-styled type, SS) and those with a long pistil style and short stamens (long-styled type, LS) is controlled by a region in the genome called the S locus. Currently, only one gene, S-ELF3, is known to be part of the S locus, which regulates style length and pistil self-incompatibility. According to the current S locus model, it is expected that in addition to S-ELF3, gene P (pollen function), gene I^p (pollen incompatibility) and A (stamen length) should be present. The S locus is hemizygous. It is present in the short-styled form in one of two homologous chromosomes and absent in the long-styled form. For buckwheat, several homostyle mutants are known; for long-style homostyle mutants the study of the genetic basis of this phenotype shows that it is caused by the disruption of S-ELF3 gene. Short-styled homostyle mutants are much rarer and less studied. Earlier we have shown that in short-styled homostyle self-pollinated accession KK8 S-ELF is intact; currently we report the results of a follow-up study based on whole genome sequences. This knowledge may enhance the understanding of the S locus structure and will also provide an opportunity to utilize this knowledge in the development of self-pollinated varieties.
Materials and methods: We have sequenced the genomes of the short-styled homostyle self-polinated mutant KK8 and the genome of short-styled cross-pollinated *F. esculentum* ssp. *ancestrale* (further *Fea*), the wild ancestor of cultivated buckwheat using long-read sequencing on Oxford Nanopore Technologies platform. Assembly was performed using Mabs-hifiasm. S locus structure was inferred by applying local and global sequence alignment algorithms. Structural annotations were generated for the assemblies using Braker3. RNA-seq data from flowers and inflorescences of short-styled buckwheat, long-styled buckwheat of the cultivar Shinano, and RNA-seq of the homostyle line KK8 were also used in the analysis. DESeq2 was used to analyze differential gene expression in inflorescences and flowers. In addition, DNA-seq data collected in two pools for short-styled and long-styled plants were used to further perform QTL-seq analysis and identify potential signal at the S-locus region.
Results: We assembled the genomes up to a chromosome level Their comparative analysis revealed a translocation of a region from chromosome 2 to chromosome 1 in the genome of KK8. This translocation encompasses 1 Mb including the S-ELF gene. In *ancestrale* genome, the entire S locus is located in chromosome 2. We hypothesize that this translocation is one of the reasons for the homostyly of KK8. Interestingly, that KK8 behaves as typical short-style plant in one aspect – successfully sets seeds when pollinated by the pollen of long-type, but as long-style in other aspect – it successfully pollinates short-style plants. This observation allowed us to assume that the P gene was disrupted in KK8 during translocation. To confirm our assumption, we analysed gene set in KK8 and Fea. During the analysis we found the S-locus associated polygalacturonase gene present in *Fea* but absent in KK8. According to the literature, polygalacturonases are involved in pollen function. Gene expression profiles and DE gene analysis also reveals the similarity between KK8 flowers and both long-style cross-pollinated flowers as well as with the short-style cross-pollinated flowers and supports the key role of polygalacturonase.
Conclusions: The analysis revealed a partial translocation of the S locus from chromosome 2 to chromosome 1 in the genome of short homostyle accession KK8. Candidate genes for the role of a gene with P function in the genome of the wild ancestor of cultivated buckwheat were identified. We also analyzed gene expression profiles in the context of the uncommon pollen traits that exhibit the same specificities as pollen in long-styled plants.

doi 10.18699/PlantGen-2025-274

A pan-transcriptome scale study of long non-coding RNA diversity in maize

A.Y. Pronozin*, N.A. Shmakov, D.A. Afonnikov
Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia
** pronozinartem95@gmail.com*

Motivation and aim: Long non-coding RNAs (lncRNAs) are a class of linear or circular RNA molecules over 200 nucleotides long that do not encode proteins. Experimental studies have shown a wide range of functions of lncRNAs in plants. They are involved in the regulation of resistance to cold, salt and heat stress, influence hypoxia tolerance and participate in fruit, root and leaf development. This diversity of functions makes lncRNAs an important target for research in the context of crop resistance and productivity.

Despite progress in the study of the structural and functional characteristics of lncRNAs, their evolutionary origin remains poorly understood. This is due to the many factors that need to be considered when identifying lncRNAs. The size of lncRNAs is similar to the size of some protein-coding genes, which leads to overprediction errors. Also, lncRNA sequences rapidly accumulate mutations, so that even with sequences from closely related species of organisms they have weak homology. These features of lncRNAs demonstrate the necessity of analyzing the transcriptomes of multiple members of the same species, and the concept of pan-genome and pan-transcriptome was developed for this purpose. However, to date, the works devoted to the study of pan-genomes and pan-transcriptomes are mainly focused on the identification and study of new protein-coding genes, and the detection of lncRNAs is a minor study.

The use of pan-transcriptomes will improve the study efficiency, accuracy, and completeness of predicted lncRNAs compared to using the transcriptome of a single species representative. This work focuses on the pan-transcriptome analysis of maize, comparing its coding and non-coding parts. In order to identify patterns of evolution of protein-coding genes and lncRNAs.

Materials and methods: A total of 503 libraries of maize inbred lines were used in this work. A bioinformatics pipeline was developed for pan-transcriptome assembly and analysis, which includes three processing steps: transcriptome assembly, pan-transcriptome assembly, and pan-transcriptome analysis. Pan-transcriptome analysis, includes: gene family clustering and expression analysis, pan-transcriptome structure analysis, SNP search and analysis, and synonymous and non-synonymous substitution analysis.

Results: As a result, two maize pan-transcriptomes were obtained. The pan-transcriptome containing the coding part counts 245436 protein-coding genes. The pan-transcriptome containing the non-coding part counts 595198 lncRNAs. Structure analysis revealed that both pan-transcriptomes are closed. However, a more deep investigation, showed that the pan-transcriptome of lncRNAs is mainly (52%) composed of transcripts represented in less than 10% of the investigated transcriptomes. Whereas the pan-transcriptome of protein coding genes mainly consists of genes represented in all transcriptomes or between 70–90% of the total. Polymorphism analysis confirmed the literature data on lncRNA variability. Analysis of nucleotide diversity (π) showed that lncRNAs have more mutations compared to mRNAs, indicating their rapid evolution. Also, mRNAs exhibit a more stable evolutionary pattern with neutral changes, where mutations and genetic drift are less pronounced. Whereas lncRNAs, show greater variability in values, and are shifted to the region of balanced selection. The analysis of synonymous and nonsynonymous substitutions in mRNAs and the frequency of nucleotide substitutions for lncRNAs also showed greater variability in lncRNAs, which once again confirmed our conclusions.

Conclusions: In this study, two maize pan-transcriptomes containing coding (protein-coding genes) and non-coding (lncRNA) parts were assembled. Although both pan-transcriptomes are closed, however, the lncRNA pan-transcriptome is closer to the open type because it stops expanding upon addition of a new transcriptome only at 500 samples, whereas the protein-coding genes pan-transcriptome stops expanding at 100 samples. Analysis of polymorphisms and synonymous/nonsynonymous substitutions showed that lncRNAs have more mutations compared to mRNAs, indicating their rapid evolution as well as greater variability between different members of the same species.

Funding: The work was carried out with funding from the budget project FWNR-2022-0020. The calculations were performed using the resources of the “Bioinformatics” Center.

doi 10.18699/PlantGen-2025-275

The induction of mice lung tumors by HeLa cells and regression by human papillomavirus type HPV16 E2 protein

N.I. Rekoslavskaya*, A.V. Tretyakova, J.V. Nurminskaya, A.A. Chemezova
Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of SB RAS, Irkutsk, Russia
** rekoslavskaya@sifibr.irk.ru*

Motivation and aim: In 2022, there were 20 million new cases of cancer and 9.7 million deaths from cancer worldwide. It is predicted that by 2050 this number will increase by 77% to 35 million. One of the reasons for the increase in carcinogenesis is the enhanced spread of viral carcinogens, such as human papillomaviruses (HPVs) with a high carcinogenic risk. In a plant expression system based on RdRP CMM, the HPV16 E2 tumor suppressor was synthesized, which induced the synthesis of T lymphocytes capable of causing regression of lung tumors in mice.
Materials and methods: The method for synthesizing HPV16 E2 in a plant viral expression system based on tomato fruits transgenic for the gene *hpv* 16 E2 has been used. To induce lung tumors in mice, HeLa cancer cells were used, which caused tumor formation the day after inoculation. The induction of synthesis of cellular immune components was studied using the Elispot procedure in T lymphocytes of the blood, lungs and in splenocytes.
Results: For the first time, a case of tumor formation in the lungs of mice was discovered when inoculated with human HeLa cancer cells *in vivo* and *ex vivo.* Studying the induction of the oncobiomarkers generation in T lymphocytes in a mice lung model in the presence of HeLa cells has promise the earlier recognition of the initiation of cancer development, timely diagnosis and therapy. It was known that “early protein” of human papillomavirus type 16 E2 exhibited tumor supersuppressor properties. The purpose of the work was to study the correlation between the generation of known oncobiomarkers: protein of cell proliferation and tumor proliferation Ki-67, oncomarker of lung tumor pyruvate kinase isoform M1, checkpoint receptor oncobiomarkers PD-1 and PD-L1 in T lymphocytes from blood, lungs and spleen affected with HeLa cells and blocking effect of 16 E2 on tumors arising after inoculation with HeLa. “Early” protein HPV 16 E2 was synthesized in plant viral expression system based on transgenic tomato fruit with the *hpv*16 E2 gene. Analyses were done mainly via Elispot technique. Oncosupersupressor HPV16 E2 has blocked the generation of T lymphocytes that expressed of oncomarkers Ki-67, PKM1, PD-1 and PD-L1 in peripheral mononuclear blood cells and in isolated lungs but not in splenocytes inoculated with HeLa cells. Therefore, for early diagnosis and of the recognition of tumor initiation, T lymphocytes of the blood and lungs should be used. It is assumed that HPV16 E2 has a high affinity and rapidly interacts with the fraction of isolated HeLa nuclei. It is assumed that HPV16 E2 performs reparative activity and thereby causes blocking of carcinogenesis
Funding: The study is supported by State assignment, No. state registration AAAA-A17-117011810102-5.

doi 10.18699/PlantGen-2025-276

Fusarium wilt of flax: multi-omics elucidation of host-specific virulence and epigenetically regulated resistance

M. Samsonova[1]*, V. Stanin[1], M. Ilina[1], T. Rozhmina[2]
[1] *Peter the Great Polytechnic University, Saint Petersburg, Russia*
[2] *Federal Research Center for Bast Fiber Crops, Torzhok, Russia*
* *m.g.samsonova@gmail.com*

Motivation and aim: Fusarium wilt, a devastating disease affecting flax (*Linum usitatissimum*), is attributed to the host-specific pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini* (Fol). Although selective breeding has successfully developed resistant flax varieties, the molecular mechanisms governing flax immunity remain poorly understood. This study employs a multi-omics approach to (1) pinpoint genomic loci and virulence factors specific to *F. oxysporum* f. sp. *lini,* (2) analyze transcriptional and epigenetic responses to infection in both resistant and susceptible flax cultivars, and (3) elucidate the spatial-temporal dynamics of fungal colonization throughout the disease progression.
Methods and algorithms: Fungal virulence was assessed in controlled greenhouse conditions using reference flax cultivars that show varying levels of susceptibility. To identify host-specific genomic regions in *F. oxysporum* f. sp. *lini*, orthogroup identification was conducted with mmseqs2 using a dataset comprising 556 *F. oxysporum* genomes from strains infecting different hosts. Infection progression was monitored in the plant using GFP-tagged *F. oxysporum* (MI39 strain). Transcriptome and methylome data were analyzed using a bioinformatics pipeline that included Kallisto, DESeq2, and other tools for differential expression and methylation profiling.
Results: We identified several specific orthogroups of *F. oxysporum* f. sp. *lini* that are functionally annotated as potential virulence factors. In resistant cultivars, the challenge posed by the pathogen resulted in significant demethylation events in genes associated with immune signaling pathways. Expression profiling of SIX effector genes, which are critical for fungal virulence, demonstrated that SIX13 was uniquely upregulated during the course of plant infection. Additionally, resistant cultivars were able to effectively limit fungal colonization to the root tissue, thereby preventing systemic movement to the stems.
Conclusions: This study enhances our comprehension of flax-Fusarium interactions by identifying genomic signatures associated with host specificity, the dynamic epigenetic regulation of defense mechanisms, and the activity of effector genes crucial for pathogenicity. The discovery of fungal-specific genes and immune-related methylation markers lays the groundwork for the development of molecular diagnostics aimed at detecting *F. oxysporum* f. sp. *lini*. Additionally, these insights could inform strategies to bolster flax resistance through either conventional breeding approaches or advanced genetic engineering techniques.
Funding: The project is supported by the RSF, grant ID 23-16-00037.

doi 10.18699/PlantGen-2025-277

Regulatory plant 14-3-3 proteins markedly differ in stability and provide insights into the plant stress resistance and molecular evolution

I.A. Sedlov[1, 2], N.N. Sluchanko[1]*
[1] *A.N. Bach Institute of Biochemistry, Federal Research Center of Biotechnology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*
[2] *School of Biology, Department of Biochemistry, M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*
* *nikolai.sluchanko@mail.ru*

Motivation and aim: Proteins unusually named as 14-3-3 are known as regulators of key physiological processes in plants. Numerous studies indicate their importance in gaining agriculturally important traits, for instance, starch accumulation, resistance to drought and salt stresses, and plant immunity. Despite over 30 years of research, the plant 14-3-3 protein family remains poorly characterized at the molecular level. The protein sequence analysis classifies plant 14-3-3s onto two large phylogenetic groups called epsilon and non-epsilon, but the biochemical and functional criteria underpinning the phylogeny were unknown. We systematically analyzed 14-3-3 proteins from phylogenetically distant plants and revealed how the phylogenetic group affiliation of a particular 14-3-3 contributes to the protein stability, which provides new routes towards molecular studies of plant stress resistance and incites new hypotheses in the fields of molecular adaptations and protein evolution.
Materials and methods: We obtained genetic constructions encoding 14-3-3 proteins: 12 of *Arabidopsis thaliana* and 3 proteins of *Selaginella moellendorffii*. We heterologously expressed the proteins in *E. coli* and purified them to homogeneity by means of two-step immobilized metal-affinity chromatography (IMAC) and size-exclusion chromatography (SEC). The proteins underwent systemic analysis with multiple biochemical approaches. The oligomeric state was determined by SEC coupled with multiangle light scattering (MALS) detection. Thermal stability was measured with differential scanning fluorimetry (DSF). Surface hydrophobicity was probed with an environmentally sensitive fluorescent dye bis-ANS. Thermodynamic stability of 14-3-3s was estimated by analyzing protein migration patterns at the increasing denaturant concentrations on native gel electrophoresis. We studied 14-3-3 dimer dissociation by SEC of gradually diluted protein samples and by running native gels. To assess the resistance to proteases, we probed the proteins with a model protease chymotrypsin and also analyzed protein degradation in plant lysates. As a functional test, we studied the interaction of 14-3-3s and a model client protein phosphopeptide by fluorescence polarization. Structure-guided site-directed mutagenesis was applied to analyze the effect of mutating the key amino acid positions responsible for protein stability. We conducted bioinformatic analysis to determine the conservation of the key residues in phylogeny.
Results: We showed that all analyzed 14-3-3 proteins of *A. thaliana* form homodimers, a typical attribute of 14-3-3s. However, surprisingly, the four epsilon group proteins monomerized upon dilutions to low protein concentrations (100 nM) and in the native gel, which was in striking contrast with the non-epsilon group proteins behaving as stable dimers under the same conditions. This effect had nothing to do with phosphorylation of the proteins studied, as their treatment with unspecific phosphatase did not change the observed pattern. The monomerizing epsilon group proteins had enhanced surface hydrophobicity, indicating the dissociation occurs already in the intact protein solution. Remarkably, the epsilon-type proteins were much less thermostable than non-epsilon-type (the decrease in the melting temperature exceeded 20 °C). Epsilon group proteins were readily degraded by proteolysis and elevated temperatures in the model experiments. The outstanding instability of epsilon-type 14-3-3 inspired us to search for a mechanistic explanation of the observed phenomena in the spatial structure and polypeptide sequences. By point mutagenesis of 14-3-3 iota (epsilon-type), we found two key amino acid positions, P1 and P2, contributing to the 14-3-3 stability. The identified positions correlated well with the epsilon/non-epsilon demarcation on a wide taxonomic scale: Lycophytes, Ferns, Gymnosperms, Monocots and Dicots. We experimentally verified the predicted demarcation in *S. moellendorffii* and showed that epsilon 14-3-3 is less stable than the two non-epsilon paralogs. Interestingly, multiple biochemical approaches demonstrated that *S. moellendorffii* 14-3-3 are more biochemically stable than *A. thaliana* 14-3-3. Using protein melting temperature data, we demonstrated that in the course of evolution, thermostability of the epsilon and non-epsilon groups decreased and the melting temperature gap between the two groups instead increased.
Conclusions: We showed that in two plant models from evolutionary distant taxa 14-3-3 proteins from the epsilon group are substantially less stable than the non-epsilon paralogs. This provided the first evidence on the biochemical and functional difference of the epsilon and non-epsilon groups of 14-3-3 proteins. The identified strong relationship between the biochemical properties of 14-3-3 and their phylogenetic affiliation resulted in the formulation of an accurate criterion predicting protein biochemistry from sequence of a given 14-3-3 from organisms across all vascular plants. Decrease of thermostability in the course of evolution sheds light on the origin of plant 14-3-3, suggesting that an ancestral protein was stable and non-epsilon-like.
Funding: Partially supported by the RSF grant 24-74-00091, https://rscf.ru/project/24-74-00091/.

doi 10.18699/PlantGen-2025-278

In vitro CRISPR-Cas9 cleavage assay for targeted editing of *TGMS5* gene in wheat

A. Shafi*, E. Potokina
Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russia
** Ajaz.shafi@skoltech.ru*

Motivation and aim: Wheat is one of the most important cereal crops grown worldwide and plays a vital role in ensuring global food security. However, recent wheat yield gains have lagged behind other major crops such as rice and maize due to climate variability and rising demand. The development of hybrid wheat varieties is essential for improving yield potential and ensuring global food security. Thermo-sensitive genic male sterility (*TGMS*) is a promising tool for developing high-yielding hybrid wheat. However, the complexity of the wheat genome and limitations in transformation efficiency make precise genome editing difficult. CRISPR/Cas9 genome editing presents a revolutionary alternative, allowing targeted disruption of *TGMS5* gene male-sterile lines. However, the efficiency of CRISPR editing in wheat remains constrained by its polyploid genome, low transformation rates, and the risk of off-target effects.
The aim of this study was to design and evaluate CRISPR-Cas9 guide RNAs (gRNAs) targeting the *TGMS5* gene using an *in vitro* cleavage assay. By screening gRNA candidates for cleavage efficiency and specificity prior to plant transformation, we aim to improve the accuracy and success rate of gene editing in wheat. This approach will support future efforts in generating stable *TGMS* lines and advancing hybrid wheat breeding technologies.
Materials and methods: Genomic DNA was extracted from wheat leaves and used to amplify target regions of the *TGMS5* gene via PCR. Ten guide RNAs (sgRNAs) were designed using Wheat CRISPR bioinformatics tool (https://crispr.bioinfo.nrc.ca/WheatCrispr/), aiming to identify highly efficient and homoeoallele-specific candidates for wheat genome editing.
Results: An *in vitro* assay was conducted to test the cleavage efficiency of selected gRNAs targeting the *TGMS5* gene. It included an *in vitro* gRNA transcription, gRNA and Cas9 assembly to RNP complexes and incubation with PCR-amplified *TGMS5* fragments. Primers were designed to generate amplicons with distinct fragment sizes, enabling clear visualization of cleavage events via agarose gel electrophoresis. All the tested gRNAs showed clear and consistent cleavage activity, with exhibiting the highest efficiency. These results closely matched *in silico* predictions generated using the Wheat CRISPR tool. The validated gRNAs demonstrate both high efficiency and specificity, making them strong candidates for CRISPR/Cas9-mediated genome editing in wheat breeding and functional genomics.
Conclusions: This study we have successfully combined *in silico* analysis and *in vitro* validation to identify highly efficient and specific gRNAs targeting the *TGMS5* gene in wheat. By using a CRISPR/Cas9 *in vitro* cleavage assay, we were able to pre-screen and optimize guide RNAs prior to plant transformation, minimizing the risk of off-target effects and low editing events efficiency. The validated gRNAs provide reliable tools for precise genome editing and lay a strong foundation for developing thermo-sensitive male sterile lines in wheat. These findings contribute to advancing CRISPR-based strategies in wheat breeding, with potential to accelerate the development of high-yielding, climate-resilient hybrid varieties.
Funding: The study is supported by No. 1125_Sk Foundation grant.

doi 10.18699/PlantGen-2025-279

Determining molecular functions of the *Ant27* locus that controls proanthocyanidin synthesis in barley grain

O.Y. Shoeva[1, 2]*, M.O. Orbant[1, 2], I.V. Totsky[1], R. Li[2], A.A. Denisov[1, 2], N.A. Shmakov[1, 2], A.V. Doroshkov[1], G.V. Vasiliev[1], D. Stuart[3], S. Zakhrabekova[3], M. Hansson[3]

[1] *Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia*

[2] *Faculty of Natural Sciences, Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

[3] *Department of Biology, Lund University, Lund, Sweden*

* *olesya_ter@bionet.nsc.ru*

Motivation and aim: Proanthocyanidins (PAs) are oligomeric flavonoids belonging to plant polyphenols. These compounds accumulate in seed coat of barley grain, having an important role in dormancy maintaining and protection of embryo from severe environments. Besides that, they have a significant impact on grain quality determining its intended use. To study genetics control of PAs synthesis in barley more than 700 *anthocyanin-less* (*ant*) mutants grouped into 30 loci, have been obtained by mutagenesis. Molecular functions were determined only for 10 of them. The aim of this study was to determine localization in genome and molecular functions of the *Ant27* locus that control PAs synthesis in barley grain.

Materials and methods: Two PA-free mutants *ant27.488* and *ant27.2043* obtained by mutagenesis applied to cultivars Zenit and Arena, respectively, were get from NordGen (Alnarp, Sweden). F_2 population derived from the PA-free *ant27.488* mutant and wild type cultivar Quench counting for 699 hybrids was used for bulked segregant analysis (BSA). Soaking the grains in NaOH allowed phenotyping the hybrid plants for PAs in grain. Pooled DNA of the hybrids accumulating or absence PAs, together with DNA of the parental samples was genotyped by SNP-chip Illumina Infinium Barley 50K (TraitGenetics, Germany). The data on SNP-genotyping were analyzed by Flapjack v.1.21.02.04. In the identified region, Arabidopsis orthologous genes engaged in PAs biosynthesis were found using TAIR database. The full length nucleotide sequences of the candidate gene in the mutants and their parental cultivars were determined by Sanger sequencing. CAPS markers were developed based on the SNPs revealed between the mutants and corresponding parental cultivars and used for genotyping F_2 hybrids *ant27.488*xQuench to validate the candidate gene. The transcription of the candidate gene and a set of flavonoid biosynthesis structural genes was analyzed in developing grain by quantitative RT-PCR. To reveal phenotypic effects of the mutations the cellular architecture of the epidermis in roots of seedlings and adult pre-boot leaves, the germination rate and growth parameters were compared between the mutants and their parental cultivars. Transcriptomic analysis of developing grain of *ant27.488* and Zenit was carried out by NextSeq™ 550 RNA sequencing.

Results: By BSA the *Ant27* locus was prescribed to a region of 170 Mb of chromosome 5H, in which the *HvWRKY40* gene orthologous to Arabidopsis *Ttg2*, participating in regulation of the PAs synthesis in seed coat was identified. Besides PAs synthesis, this gene control trichome development and mucilage production in seeds coat of Arabidopsis. In barley, comparative transcription analysis of flavonoid biosynthesis structural genes showed decreased expression of *Chs*, *F3h*, *Dfr*, *Lcr*, and *Aha10* in seed envelopes of the both mutants in comparison with their parental cultivars. The data imply that the *Ant27* gene has regulatory functions in PAs synthesis confirming that it may be *HvWRKY40*. Sequencing the gene in both mutants revealed the following SNPs: a G/A mutation at position 570, which is located before the translation start site in *ant27.488*, and a C/T mutation at position 717, resulting in a change from glutamine to a stop codon in *ant27.2043*. The coincidence of the mutant allele *ant27.488* and the phenotype in the F_2 hybrid population of *ant27.488* x Quench, where all 10 PA-free hybrids among the 165 analyzed carry the mutant allele in a homozygous state and all 155 PA-positive hybrids were either homozygous or heterozygous for the wild-type allele, confirmed the *HvWRKY40* gene as *Ant27*. The mutations affect the germination rate and growth parameters of barley plants demonstrating the pleiotropic functions of the gene. Comparative transcriptomic analysis revealed 1937 down-regulated and 670 up-regulated genes in the *ant27.488* mutant compared to the parent *cv*. Zenit at the late milk stage of grain development, while at the early dough stage 1636 and 966 genes, respectively were revealed. The flavonoid biosynthesis genes were expressed differently at the late milk stage, which was identified as a crucial stage for the regulation of PAs synthesis. Besides flavonoid biosynthesis pathway, the genes associated with response to abscisic acid, hydrogen peroxide and salt stress were identified among down-regulated in the mutant. Among the up-regulated genes in the mutant, those associated with DNA repair processes and cytoskeletal reorganization were identified. This may reflect the activation of compensatory mechanisms in response to disruption of PAs synthesis, which are protective compounds.

Conclusions: The gene *HvWRKY40* was identified as a candidate for the *Ant27* locus mapped to chromosome 5H. This data serves as a basis for further identification of other genes involved in PA synthesis, as well as for breeding PA-free barley varieties.

Funding: The study is supported by the Russian Science Foundation, project No. 25-16-20101, https://rscf.ru/project/25-16-20101/.

doi 10.18699/PlantGen-2025-280

Telegram-bot for the furanocoumarin database in Apiaceae

V.Yu. Shtratnikova[1], E.I. Ivanov[2]
[1] *Belozersky Research Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*
[2] *Medical Research and Educational Institute, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*
* *vtosha@yandex.ru*

Motivation and aim: Furanocoumarins are naturally occurring substances with numerous biologically active properties. The most well-known are their phototoxicity and mutagenicity. They are widely used in the treatment of skin diseases (vitiligo and psoriasis), their neuroprotective, anti-inflammatory, antidiabetic, antiviral, insecticidal and other properties are being studied. Knowledge of the biosynthetic pathways of certain substances in plants can be used to develop a theoretical basis for increasing their synthesis or neutralizing their negative effects. The biosynthesis of furanocoumarins in plants has not been fully studied; only a few enzymes in a small number of plant species have been studied. In order to study biochemical pathways, it is necessary to have a comprehensive understanding of which substances are found in certain plant species. Existing databases have insufficient coverage, focusing only on species of pharmaceutical importance. The resulting database is limited to the Apiaceae family, but claims to be comprehensive in covering all species of this family studied to date.
Materials and methods: Using literature data analysis from the base https://scifinder-n.cas.org/ and manual verification, three types of information were collected:
1) taxonomic position of the species specified in the publication, as well as its modern taxonomic position,
2) data on the structure of furanocoumarins isolated from the plant (links to PubChem, Cas number, SMILES code of the structure),
3) literature reference indicating the publication in which a specific substance was isolated from a specific plant species.
The Telegram bot that allows using the database was created using Python 3.11 tools, the SQLite library, and python-telegram-bot.
Results: The furanocoumarin database in the Apiaceae family contains about 12.5 thousand manually verified records, includes information on 650 species and 400 planar structures (taking into account isomers – 1100 structures). The Telegram bot, available at the link https://t.me/borshevicBot, allows you to search by name or by a specified PubChemID of a substance (database https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/), as well as by the genus-species name of the plant or its LSID (database www.ipni.org). The bot provides information on which substances of the furanocoumarin structure are identified in a given plant species and how many publications describe this fact. The bot also allows you to save the search results in xls format, including unique publication identifiers for each fact of determination.
Conclusions: A database of furanocoumarin structures in the Apiaceae family and a telegram bot based on it have been created, allowing one to determine which substances have been identified in which plant species to date.
Funding: The study was conducted under the state assignment of Lomonosov Moscow State University.

doi 10.18699/PlantGen-2025-281

Exploration of genetic architecture of major agronomical traits in *Vicia sativa* collection via Genome-Wide Association Studies (GWAS)

L.A. Sidorov[1], A. Zamalutdinov[1], S. Boldyrev[1], F. Maalouf[2], D. Rubiales[3], E. Barilli[3], R. El Amil[4], R. Mentag[5], L. Gentzbittel[6], C. Ben[6]*

[1] *Skolkovo Institute of Science and Technology, Skoltech, Moscow, Russia*
[2] *International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA), Beirut, Lebanon*
[3] *Institute for Sustainable Agriculture, CSIC, Avda. Menéndez Pidal s/n, 14004 Córdoba, Spain*
[4] *Lebanese Agricultural Research Institute, Rayak, Bekaa, Lebanon*
[5] *Biotechnology Research Unit, Regional Center of Agricultural Research of Rabat, National Institute of Agricultural Research, Avenue Ennasr, B.P. 415, Rabat Principale, Rabat 10090, Morocco*
[6] *Centre de Recherche sur la Biodiversité et l'Environnement (CRBE), Université de Toulouse, CNRS, IRD, Toulouse INP, Université Toulouse 3 - Paul Sabatier (UT3), Toulouse, France*
* *cecile.ben@tououse-inp.fr*

Motivation and aim: Legumes are valuable crops for human and livestock nutrition, offering health benefits. *Vicia sativa* (common vetch) enhances soil fertility through nitrogen fixation and supports intercropping, boosting productivity of cereals and climate resilience. However, its cultivation has declined since the late 20th century due to excessive use of nitrogen fertilizers and reduced profitability, thus, limiting genetic research. Renewed focus on sustainable agriculture makes intercropping practices more vital. This study aims i) to explore the genetic diversity in the unique vetch germplasm; ii) and to identify new Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) associated with key agronomic traits in *V. sativa* to aid breeders in developing improved cultivars.

Materials and methods: 289 accessions of *V. sativa* were genotyped using GBS (Genotype-by-Sequencing) approach. Phenotypic data for the same collection was obtained in a multi-environment trial according to alpha-lattice block design, in three different countries (Spain, Morocco, and Lebanon) over three campaigns from 2021 to 2023. In total, 17 major agronomical traits were recorded (including grain yield, plant biomass, day to flowering, maturation, and etc.), with three traits common to at least two locations. Due to the high environmental effect on *V. sativa* trait performances, Best Linear Unbiased Estimators (BLUEs, genetic effects in this case) were estimated using mixed linear models fitted i) per year×location; ii) per location over the years; iii) and for all the locations and years. Population structure was inferred based on the LD pruned SNP (Single Nucleotide Polymorphisms) data set (18k markers) with both ADMIXTURE and Discriminant Analysis of Principal Components (DAPC) methods. 320k SNP data set was employed for GWAS analyses, where five GWAS statistical models (GLM, MLM, SUPER, FarmCPU, and BLINK) were implemented and compared.

Results: SNP-based population genomics identified ten populations within the collection, pinpointing some discrepancy with the botanical description of some samples and thus leveraging the usage of whole-genome high-throughput genotyping for the refining of botanical classification. GWAS revealed 41 associated SNP, including 37 SNPs specific to a particular location and year for different traits, and 4 SNP, associated with a plant height trait, one of the few traits common to several environments. Such strong Genotype×Environment effect highlights that most detected SNPs might be employed in marker-assisted selection, depending on the region for growing this crop. After the quality control on the false positive discovery, we developed KASP (Kompetitive allele specific PCR) markers for the most promising genomic variants.

Conclusions: This study provides insights into the genetic diversity and major agronomical traits genomic architecture of *V. sativa*, a crop with ecological and agricultural benefits. Owing to comprehensive genotyping and multi-environment phenotypic evaluations, Genome-wide association analyses revealed SNPs associated with key agronomic traits, though their significance varied across environments, underscoring the strong genotype-by-environment (G×E) interactions in *V. sativa*. These findings suggest that breeding strategies should account for regional environmental conditions to optimize trait performance. Future studies should further validate these SNPs in diverse environments and explore their functional roles to enhance breeding precision and crop productivity.

Funding: The study is supported by PRIMA (Partnership for Research and Innovation in the Mediterranean Area). No. DiVicia project – 2019-SECTION2-9.

doi 10.18699/PlantGen-2025-282

Potential of using the RUBY reporter system in the transformation of *Pisum sativum* and optimization of the selection of transgenic calli

V.Y. Simonova[1]*, E.A. Potsenkovskaia[1], V.E. Tvorogova[1, 2], L.A. Lutova[1, 2]
[1] *Plant Biology and Biotechnology Department, Sirius University of Science and Technology, Sirius Federal Territory, Krasnodar region, Russia*
[2] *Department of Genetics and Biotechnology, Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia*
* *nikasimonova14@gmail.com*

Motivation and aim: In plant transformation systems, the selection of transformed cells requires the use of marker genes, such as antibiotic resistance or reporter genes. The latter typically necessitate the use of expensive equipment and reagents. Recently, the RUBY reporter system was proposed, which is based on the synthesis of enzymes that convert tyrosine into the bright red pigment betalain [1]. The advantage of the RUBY system is the possibility of non-invasive visualization of transgenic tissue *in situ* without the use of specialized equipment or expensive chemical substrates.

Legumes, including peas, are susceptible to Agrobacterium-mediated transformation. However, unlike many other species, the regeneration of whole plants from transformed pea cells under *in vitro* conditions presents significant difficulties [2]. The use of somatic embryogenesis regulators may help solve this problem. A reliable system enabling the production of transgenic pea callus tissues is required for the systematic search and evaluation of such regulators.

Materials and methods: In our experiment, seeds of a pea cultivar "Jaguar" were taken. The seeds were kindly provided by the "NOVA PLANT" company. For pea transformation, *Rhizobium radiobacter* (*Agrobacterium tumefaciens*) AGL1 strain was used, which was transformed with the pHDE_RUBY plasmid for the RUBY overexpression. For shoot apices transformation, we used a method from [3]. For cultivation explants we used MS-mod medium [4].

Results: During the experiment, conditions were found intensifying the coloration of transgenic calli, which helps to select them.

Conclusions: We investigated the efficiency of the RUBY system for pea transformation and optimized the conditions for selecting transgenic explants.

Funding: The study is supported by the Russian Science Foundation, grant No. 24-26-20117.

References

1 He Y., Zhang T., Sun H. et al. A reporter for noninvasively monitoring gene expression and plant transformation. *Hortic Res*. 2020;7(1):152
2 Simonova V.Y., Kozlov N.V., Potsenkovskaia E.A., Tvorogova V.E., Lutova L.A. Development of a testing system for regeneration regulators in *Pisum sativum* L. *Ecol Genet*. 2022;20:21
3 Wu H.-Y., Liu K.-H., Wang Y.-C. et al. AGROBEST: an efficient *Agrobacterium*-mediated transient expression method for versatile gene function analyses in *Arabidopsis* seedlings. *Plant Methods*. 2014;10:19
4 Kysely W., Jacobsen H.-J. Somatic embryogenesis from pea embryos and shoot apices. *Plant Cell Tiss Organ Cult*. 1990;20:7-14

doi 10.18699/PlantGen-2025-283

Genomic determinants of host specificity in *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini*

V.A. Stanin*, A.A. Kanapin, A.A. Samsonova, M.G. Samsonova
Peter the Great St Petersburg Polytechnic University, Saint Petersburg, Russia
** staninvldislav@mail.ru*

Motivation and aim: Fusarium wilt of flax is an aggressive disease caused by the soil-borne fungal pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini*, which poses a significant threat to flax production globally. The fungus invades through roots and spreads inside the vascular bundle, blocking water and nutrient flow, eventually leading to plant wilt and death. This study aims to characterise the genomic determinants that promote the infection process in flax. The specificity and virulence of *F. oxysporum* are interrelated, as disease severity strongly depends on various strategies targeting the suppression of particular plant immune response mechanisms. Flor's well-known "gene-to-gene" theory describes the interactions between hosts and pathogens. Fungi produce effector proteins capable of suppressing plant immunity reactions, thereby facilitating plant colonisation. In response, plants have evolved resistance (R) genes that specifically interact with these effector proteins, triggering a hypersensitive response. While effector genes play a critical role in this interaction, recent studies indicate that virulence and specificity may also depend on a wide range of proteins, including various factors and enzymes. Here, we investigate the proteomes of *F. oxysporum* f. sp. *lini* isolates to identify the determinants that differentiate them from other special forms and contribute to their specific pathogenicity in flax.

Materials and methods: In this study we analysed 21 *F. oxysporum* f. sp. *lini* isolates obtained from straw and vegetative plant material. Fungal DNA was extracted and sequenced via DNBseq to generate paired-end reads. Sequencing data were assembled into draft genomes using SPAdes, followed by scaffolding with RagTag, which incorporated the MI39 strain genome as a reference. Assembly quality was evaluated with QUAST and BUSCO, referencing the hypocreales_odb10 database. Protein-coding genes were predicted using AUGUSTUS in "fusarium" mode, and functional annotation was conducted with eggNOG-mapper and InterProScan to characterise gene functions and domains. To identify proteins that are either unique to *F. oxysporum* f. sp. *lini* or those exhibiting significant divergence from other special forms, we performed protein clustering with MMSeqs2. This analysis incorporated a combined protein dataset encompassing several *F. oxysporum* f. sp. *lini* strains, other special forms of *F. oxysporum* and non-*oxysporum Fusarium* species. Sequences derived from "unique" clusters were further analysed with WEB-BLAST to confirm these as novel discoveries.

Results: We assembled 21 genomes from *F. oxysporum* f. sp. *lini* isolates, achieving an average N50 of 4132 Kbp, an L50 of 6 scaffolds, and a completeness of 98–99%. The predicted proteomes contained about 16000-19000 sequences. We identified 13 protein clusters that differ significantly from proteins in other *Fusarium* species. Most proteins within these clusters are predicted to be involved in cellular catabolic processes, cellular stress responses, and DNA and RNA processing. The WEB-BLAST results show sequence alignments with identity levels ranging from 70 to 97%.

Conclusions: A comprehensive analysis of 21 *F. oxysporum* f. sp. *lini* strains using high-quality *de novo* genome assemblies identified key genomic factors that contribute to the fungal virulence and its interaction with flax. Establishing the significance of these determinants in the pathogenic process is imperative, and thus, further *in planta* investigations are essential to advance our understanding and inform future strategies.

Funding: The study is supported Russian Science Foundation, grant 23-16-00037.

doi 10.18699/PlantGen-2025-284

Biotechnology of creating violet-colored forms of triticale and their characteristics

P.I. Stepochkin*, N.V. Petrash, E.V. Morozova
Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia
** stepopetr@mail.ru*

Objective: To make violet-colored forms of spring triticale using biotechnological methods and to characterize them according to qualitative and quantitative traits.
Material and methods: There were studied hybrids of F5–F6 hexaploid spring triticale (× Triticosecale Wittmack) Sadko from the world collection of VIR (k-3927) with a breeding form of emmer (Triticum dicoccum (Schrank) Schuebl.) 27-3/17, characterized by purple grain color and F2–F3 hybrids from complex crosses: (F1 spring soft wheat Purple Feed × facultative diploid rye Korotkostebel'naya 69) × (F4 triticale Sadko × emmer 27-3/17). DNA was extracted from young plant leaves of hybrids of the second (F2) and third (F3) generations, analyzed with an intragenic marker Pp3-diagnostic, developed to gene *Pp3,* and a microsatellite marker closely linked to the *Pp-D1* gene. To clarify the genotype of the hybrids at the DNA level, the intragenic marker Pp3-diagnostic, developed to the *Pp3* gene located on chromosome 2A, and the microsatellite marker Xgwm0046, flanking the *Pp-B1* gene located on the chromosome 7B, were used. Using the markers a PCR procedure and the separation of PCR products in an agarose gel were performed according to the conditions described earlier. Phenological observations and structural analysis of plants were carried out in all generations of the hybrids.
Results: According to the results of the analysis, it was previously established that 4 fertile plants of the hybrid F4 triticale Sadko × emmer 27-3/17 have the genotype *PpB1Pp-B1Pp3Pp3*, therefore, F_5–F_6 generations made by self-pollination are also homozygous for these dominant genes. All the plants had purple grain color. The diversity of plants different in some qualitative and quantitative characteristics is noted. In both F_5 and F_6, along with semi-awned plants, up to 3–5% awnless and 10–15% awned ones were found in populations. The length of the straw was in the range of 75–85 cm on average. There were single plants with the value of this feature 35–50 cm. They were almost or completely sterile. Plants over 130 cm tall were also rare (less than 1%). The grain content of plants in terms of 1 spike was higher in F_6 (1.09–1.39 pcs.) compared with F_5 (0.41–1.00 pcs.). A wide variety of plants in morphological, qualitative and quantitative characteristics was noted in the hybrids F_2 obtained from complex crosses. According to the degree of purple color of the grain, they varied significantly, from zero to intense. The range of variability of plant height was large. The shortest–stemmed plant reached only 42 cm, and the longest-stemmed plant reached 145 cm.
The length of the straw of the shortest plant reached only 42 cm. The length of the long-stemmed plant reached 145 cm. The grain content of the spike of the most fertile plant reached 1.53.
Conclusions: Based on the triticale forms made with the help of biotechnology with purple grain color, carrying homozygous dominant genes controlling this trait, new violet-colored triticale forms with increased grain content and a wide variety of plants in qualitative and quantitative characteristics were obtained.
Funding: The research was carried out at the expense of the grant of the Russian Science Foundation No. 25-26-20153, https://rscf.ru/project/25-26-20153/.

doi 10.18699/PlantGen-2025-285

Flax amaranthin-like protein with aerolysin domain: molecular modeling and docking

N.G. Syrchina*, N.V. Petrova
Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia
** ngsyrchina@gmail.com*

Motivation and aim: Amaranthins are plant lectins that recognize carbohydrates but lack fermentation activity related to the sugars they bind. First isolated from *Amaranthus caudatus* seeds, all amaranthins are homodimeric lectins with β-sheet structures. The domain organization within this family is diverse, with two amaranthin domains often paired with one aerolysin domain. This combination is notable because aerolysin is a pore-forming toxin (PFT). The prevailing hypothesis suggests that amaranthin-like proteins with aerolysin domains may serve a defensive role against pathogens, herbivores, and other environmental stressors. The flax protein Lus10016109 contains two amaranthin-like carbohydrate-binding domains and one aerolysin domain. The aim of this study was to construct a molecular model of Lus10016109 and perform molecular docking analyses to explore the role of the aerolysin domain in amaranthin-like proteins and, more broadly, in plant systems. These findings will inform future experimental manipulations, including getting recombinant Lus10016109 protein expression in the *Nicotiana benthamiana* system.
Materials and methods: The amino acid sequence of Lus10016109 was obtained from the Phytozome database and analyzed for domain structures in FASTA format using the NCBI Conserved Domain Search platform and the PANTHER database. The protein was modeled by inputting its amino acid sequence into four different online platforms, each employing distinct modeling approaches. The models were evaluated using QMEAN, and the most reliable model was selected for visualization in Mol* 3D viewer and further analysis with QMEANDisCo.
Given the known affinity of amaranthin for T-antigen (Transue, 1995), molecular docking simulations were performed for Lus10016109 and T-antigen using SwissDock (exhaustiveness = 32), with validation by Smina software on SeamDock and visualisation by Mol* 3D viewer. To compare predicted and experimentally identified carbohydrate-binding sites, the amino acid sequences of two carbohydrate-binding domains of Lus10016109 were aligned using the MUSCLE algorithm.
Results: The most accurate model of Lus10016109 was generated using AlphaFold 3, yielding a QMEANDisCo score of 0.55 ± 0.05. Molecular docking analysis of Lus10016109 with T-antigen, using SwissDock, revealed unexpected results, which were verified with Smina on SeamDock. Contrary to expectations, the T-antigen showed the highest binding affinity with the insertion loop of the aerolysin domain, not the carbohydrate-binding domains. Docking of the carbohydrate-binding domains revealed binding with only one domain, producing a weaker binding score than the insertion loop. The MUSCLE alignment algorithm was used to compare the carbohydrate-binding domains of Lus10016109 with those of amaranthin. We identified common patterns in the predicted binding site of Lus10016109 and the experimentally established site for *A. caudatus* amaranthin. Most of the amaranthin binding site aligned with the first carbohydrate-binding domain of Lus10016109, while the last four amino acids aligned with the second domain. Additionally, our predicted binding site was similar to that of the cucumber AAT4 protein described by Dang et al. (2017), especially in amino acid positioning. In all cases, including the binding site of the Lus10016109 insertion loop, the binding sites showed a consistent pattern of amino acids: at least one polar (likely positively charged) residue and several nonpolar residues, with at least one being aromatic.
Conclusions: The molecular modeling and docking analysis of Lus10016109 reveals structural similarities with the cucumber aerolysin-like AAT4 protein and classifies it as a natterin-4-like protein. Although further validation is needed for the predicted carbohydrate-binding activity of the aerolysin domain, this study identifies a conserved pattern for carbohydrate-binding sites in amaranthin-like proteins. These findings suggest that Lus10016109 may bind saccharides and form oligomers, contributing to our understanding of pore-forming proteins in plants and providing a basis for future experimental research.
Funding: The study is supported by the Russian Science Foundation, project number 24-24-00516.

doi 10.18699/PlantGen-2025-286

Regeneration and transformation of plants from the Fabaceae family

V.E. Tvorogova[1, 2]*, E.A. Potsenkovskaia[2], V.Y. Simonova[2], K.V. Smirnov[3], E.P. Efremova[1], Z.S. Konstantinov[1], A.V. Brynchikova[2], A.M. Artemiuk[1], D.B. Pavlova[1], D.V. Yakovleva[1], T.V. Dubenko[4], A.A. Vanina[1], L.A. Lutova[1, 2]

[1] *St Peterbsurg State Univesity, Saint Petersburg, Russia*
[2] *Sirius University of Science and Technology, Sirius Federal Territory, Krasnodar region, Russia*
[3] *All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, Saint Petersburg, Russia*
[4] *Federal Research Center N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), Saint Petersburg, Russia*
* *krubaza@mail.ru*

Motivation and aim: Fabaceae family includes a lot of well-known agriculturally important species, which are currently gaining a special significance due to their high protein content and possibility of their usage as an alternative for meat. Nevertheless, the development of new cultivars with modern genetic engineering methods is hampered for many leguminous species, due to their recalcitrance to transformation and regeneration. Therefore, the investigation of factors, influencing on transformation effectiveness and regeneration of plants from transformed cells, is of great significance for Fabaceae family. Our research is focused on studying genetic control of regeneration and identifying genes capable of inducing somatic embryogenesis – a specific regeneration pathway – in leguminous species.
Materials and methods: We use *Medicago truncatula* as a model Fabaceae species. For *M. truncatula*, several lines contrasting in their capacity for somatic embryogenesis were obtained, which can be used to identify inducers and suppressors of this process. We also use *Pisum sativum* and *Lens culinaris*, species recalcitrant for transformation, to check the effects of ectopic expression of potential regeneration stimulators. The search of genes regulating somatic embryogenesis is performed using transcriptomic analysis, as well as functional analysis with evaluation of effects of CRISPR/Cas9 mediated knock-out and overexpression of potential regeneration regulators.
Results: We found several genes encoding for transcription factors from the WOX family and the NF-Y group, which can induce somatic embryogenesis or callus formation in *M. truncatula* when overexpessed. Such genes include *MtWOX9-1*, *MtWOX2*, and members of NF-YB and NF-YA families. CRISPR/Cas9-mediated knockout of these genes in *M. truncatula* demonstrated their importance for plant development *in vivo* and/or *in vitro*. The effects of ectopic expression of these identified regulators on regeneration in other leguminous species are currently under investigation.
Conclusions: Several transcription factors from the WOX family and the NF-Y group were shown to influence the development of embryogenic callus in *M. truncatula*. We are currently evaluating the possibility of their usage for transformation of other leguminous species.
Funding: The study is supported by Russian Science Foundation, project No. 25-26-00218.

doi 10.18699/PlantGen-2025-287

Features of functioning of multigenic protein families under different stresses in some fruit crops

E. Vodiasova*, I. Gavrilenko, V. Uppe, V. Tsyupka, P. Khvatkov
Nikita Botanical Garden – National Scientific Center of RAS, Yalta, Russia
** eavodiasova@gmail.com*

Motivation and aim: The multigene protein family of class III peroxidase (POD) is the key antioxidant enzyme, which responds to different negative biotic and abiotic factors as well as involved into the plant development and growth. The number of encoding genes varies in different species and could be up to 100 and more. For example, has 138 and 124 POD genes were detected in *Oryza sativa japonica* and *Glycine max* respectively, whereas only 73 PODs were found in *Arabidopsis thaliana*. So, the evolution of this superfamily is inextricably linked to doublings and duplications. Such gene paralogisation could be resulted in the gene subfunctionalisation and influence on the plant resistance to stress factors. The aim of this study, therefore, was to evaluate the expression of POD genes in two fruit crops (*Prunus persica* and *Vitis vinifera*) using transcriptomics techniques and determine the possible correlation between the gene's expression, stresses and cultivars with different tolerance.

Materials and methods: To identify and analyse PODs we used the genome assembly of *V. vinifera* cv. Pinot Noir cl. PN40024 and the genome assembly of *P. persica* cv. Lovell from NCBI. The identification of POD genes was based on finding the peroxidase domain using InterProScan software (accession number IPR000823 according to the database). The exon-intron structure was detected using the CDS description and genome annotation. A motif analysis was performed using the MEME online tool in classic mode. A phylogenetic analysis was conducted using IQ-TREE software. The multiple alignment of protein sequences was performed using the MAFFT. The best amino acid substitution model was estimated with ModelFinder. To analyse the expression of the POD family in the peach, a transcriptome analysis of the available RNA-seq data in NCBI was performed. The first analysed experiment (PRJNA610066) was dedicated to the expression of this gene family upon infection with the fungus *M. laxa* in the mature and immature fruits of *P. persica* cv. Venus. The second analysed experiment was dedicated to study the effect of cold stress on peroxidase gene expression in the peach (PRJNA784945). Experiments *in vitro* were carried out to evaluate the expression of peroxidase genes in grapes under different stresses. Chloride and sulphate salinisation, by adding NaCl and Na_2SO_4 to the culture media, and induction of drought conditions, by adding mannitol to the culture media, were used as stresses. The 40 transcriptomes of several grape cultivars were analysed: Ferkal, BBB, Aligote, Podarok Magaracha, and Saperavi. Sequencing was performed by 150 bp paired-end reads using BGI platform. All transcriptomes were analysed using the same pipeline: quality assessment, filtering and trimming, mapping to the peach and grape peroxidase database respectively, and calculating the scores to estimate the expression level of each POD gene. Quality and length trimming were conducted using fastp. Mapping to the peroxidase database was carried out using a pseudo-alignment algorithm implemented in Kallisto v0.48.0. TPM (transcripts per million) was used for the comparative estimation of POD gene expression. Also, we investigate the POD expression in flower buds of *P. persica* under the cold stress in the laboratory condition. We selected to type of cultivars: medium tolerant (Loadel and Spring Gold) and high tolerant (Podarok Like and Temisovskij) and evaluate the gene expression for four POD genes by qPCR.

Results: Peroxidase genes form a diverse family with different exon-intron structure, and limited variation in the composition of conserved motifs. No significant association between gene structure (homology level, number of introns, composition of conserved motifs) and expression level under different stresses was established. Peroxidase genes could be clustered into low-expressed and high-expressed genes. The total peroxidase expression often increases under the stress, but individual POD genes could react in different way. Also, the various response of the same genes we observed in peach and grape cultivars with different tolerance to stress. For example, a correlation between the overall peroxidase expression and the cold tolerance of different peach varieties was demonstrated. Therefore, the expression pattern of POD may indicate the stress tolerance of cultivars of fruit crops.

Conclusions: Class III peroxidase is a large family of genes, some of them have functional specificity. The distinct genes exhibit increased and decreased expression depending on the type of stress. Thus, peroxidase gene duplications can be considered as one of the mechanisms of adaptive evolution that leads to more efficient functioning of the antioxidant system of plants.

Funding: The study is supported by the Russian Science Foundation Grant No. 23-76-10013.

doi 10.18699/PlantGen-2025-288

Computational prediction of interactions of long non-coding RNAs and microRNAs in maize

J.T. Yan[1]*, A. Pronozin[2, 3], D. Afonnikov[1, 2, 3]
[1] *Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*
[2] *Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia*
[3] *Kurchatov Genomic Center of the Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia*
* *t.yan5@g.nsu.ru*

Motivation and aim: A large portion of the genome consists of non-coding regions, including long non-coding RNAs (lncRNAs) (>200 nt) and microRNAs (miRNAs) (22–24 nt). While miRNA–mRNA interactions have been well studied, miRNA–lncRNA interactions remain largely unexplored in plants. This study analyzed maize transcriptomes with the fuzzy tassel (fzt) mutation, which affects the structure of the Dicer-like1 (DCL1) gene, a key component of miRNA biogenesis. Compared to the wild type, the mutant plants exhibit reduced expression of certain miRNAs. We hypothesized that the targets of these miRNAs could be lncRNAs with increased expression in the mutant lines.
Methods and algorithms: *De novo* transcriptome assembly and lncRNA identification were performed using the bioinformatics pipeline ICAnnoLncRNA. Transcript expression levels were estimated using Kallisto. Interactions between miRNAs and lncRNAs were predicted using PmliPred.
Results: We identified 9 lncRNAs in maize with elevated expression in the shoot of mutant plants compared to the control, and 20 in the tassel. Using PmliPred, we predicted potential interactions between these lncRNAs and miRNAs with reduced expression in the mutant plants. This allowed us to reconstruct a network graph of interacting miRNA–lncRNA pairs. Co-expression analysis was also conducted for lncRNAs involved in various interactions with miRNAs.
Conclusions: Our study provides new insights into miRNA–lncRNA interactions in maize.
Funding: This work was supported by the state budget project No. FWNR-2022-0020.

References

1 Sheng N., Huang L., Gao L. et al. A Survey of Computational Methods and Databases for lncRNA-MiRNA Interaction Prediction. *IEEE/ACM Trans Comput Biol Bioinform*. 2023;20(5):2810-2826. doi 10.1109/TCBB.2023.3264254
2 Thompson B.E., Basham C., Hammond R. et al. The dicer-like1 homolog fuzzy tassel is required for the regulation of meristem determinacy in the inflorescence and vegetative growth in maize. *Plant Cell*. 2014;26(12):4702-4717. doi 10.1105/tpc.114.132670

doi 10.18699/PlantGen-2025-289

Identifying trichomes on digital images of soy leaves

X.Y. Zhang[1]*, M.T. Menkov[2, 3], I.V. Rozanova[3], D.A. Afonnikov[1, 4]
[1] *Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*
[2] *Sirius University of Science and Technology, Sirius Federal Territory, Krasnodar region, Russia*
[3] *N.I. Vavilov All-Russian Research Institute of Plant Genetic Resources (VIR), Saint Petersburg, Russia*
[4] *Kurchatov Genomics Center, ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia*
* *s.chzhan7@g.nsu.ru*

Motivation and aim: Trichomes are extensions of the aforementioned epidermal cells in plants. Soybean leaf trichome plays an important biological role in resisting pests and adapting to the environment and exhibits a wide range of phenotypic variation. Currently, the typical method used to collect trichome data is qualitative visual counting using lenses, which is labor- and time-intensive, another method is the use of scanning electron microscope(SEM), which is costly, time-consuming and not conducive to high-throughput analysis. As more and more plant and trait parameters need to be measured quickly and accurately, various types of computer vision algorithms, immaterialage processing and machine learning classification methods are increasingly used in plant phenomics data analysis. In this work, we suggest method for an automated identification of trichomes on the surface of soybean leaves through machine vision segmentation algorithms and semantic segmentation based on neural network.
Materials and methods: The soybean trichome microscopic images, totaling over 500, were obtained from Sirius in Sochi. Among them, 146 images with manually annotated pixel-level masks were selected and divided into training (87 images), validation (29 images), and test (30 images) sets in a 60:20:20 ratio. To increase sample size and match the neural network's input requirements, all images and masks were sliced into non-overlapping patches of 128×128 pixels. These image patches served as inputs for training and evaluation in the subsequent model development stage.A U-Net convolutional neural network was constructed using the TensorFlow framework. The model accepts 128×128×3 RGB image patches and outputs 128×128×4 probability maps representing four pixel classes. During training, accuracy and loss were recorded for each epoch on both the training and validation sets. After optimization, the best-performing model was used to predict trichomes on full-sized images by segmenting them into patches, performing inference, and stitching predictions back together. In post-processing, only trichome pixels were retained, and a Gaussian filter was applied to smooth the binary output. Finally, trichome regions were detected and counted using the findContours function in OpenCV, enabling automated quantification and visualization.
Results: The U-Net model demonstrated high performance in the semantic segmentation of soybean trichome images. During training, the average accuracy reached 98.28% on the training set and 98.31% on the validation set, with both average loss values below 0.06. These results indicate that the model effectively learned to distinguish trichome structures from the background. The predicted masks retained accurate pixel-level details, and the post-processing pipeline successfully identified and counted individual trichomes across images, confirming the robustness and generalization ability of the proposed method.
Conclusions: By analyzing the number, length and other characteristic of trichomes, we will explore the association between these microstructures and the function and growth status of soybean leaves, and further reveal the important role of trichomes in plant adaptation and growth and development. By combining machine vision counting and plant phenomics research, we expect to provide important data support for geneticists to study soybean growth and development.
Funding: The study is supported by the Kurchatov Genome Center of the Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, in agreement with the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, No. 075-15-2019-1662.

doi 10.18699/PlantGen-2025-290

Use of *in vitro* culture to obtain new source material and selection of stress-resistant interspecific *Populus* hybrids

O.O. Zholobova*, I.V. Mogilevskaya, T.V. Tereshchenko
Federal Scientific Centre of Agroecology, Complex Melioration and Protective Afforestation of the Russian Academy of Sciences, Volgograd, Russia
** zholobova-o@vfanc.ru*

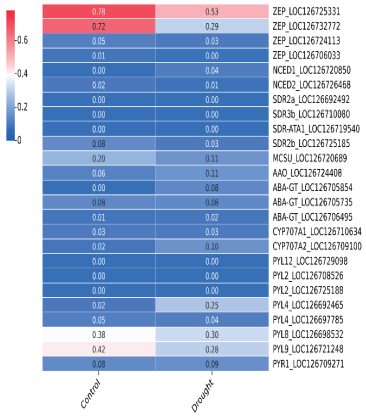
Motivation and aim: Problems of climate aridization and desertification of territories, degradation and destruction of soils require the creation of a system of protective forest plantations of fast-growing stress-resistant factors of wood species. The purpose of the study was to develop selective systems *in vitro* and obtain on their basis the initial breeding material of the interspecific *Populus hybrids*, resistant to the modeling stress factor.
Materials and methods: Controlled crossing the selected parental pairs (*P. bolleana* × *P. alba* (F_1-2), *P. deltoides* × × *P. alba* (F_1-3), *P. nigra f. piramidalis* × *P. alba* (F_1-5), *P. deltoides* × *P. bolleana* f. *piramidalis* (F_1-7)). The obtained immature seeds were transferred to the Laboratory of Biotechnology of the Federal Scientific Centre of Agroecology of the Russian Academy of Sciences. By the method of isolating immature embryos, the sterile culture of the *Populus* F1 genotypes received and multiplied *in vitro*. As a selective agent for modeling osmotic stress, a polyethylene glycol with a molecular weight of 6000 (PEG) at concentrations from 1 to 7% was introduced into the medium according to the Murashige and Skoog protocol (MS). The conditions of salinization in the *in vitro* culture were modeled with NaCl at concentrations of 0.2; 0.5 and 1,0%. The assessment of resistance to a selective factor was carried out after six weeks of cultivation by the number of survived and capable to regenerate explants.
Results: At the stage of introduction into an aseptic culture by the method of isolated embryos, more than 150 genotypes of interspecific *Populus* F_1 hybrids from four crossbreeding combinations were obtained. The optimal composition of the media for the multiplication and induction of rhizogenesis was selected. Also the genotypic reaction of hybrids during micropropagation, which manifested in the rate of regeneration potential, was noted. The parameters of the spectral composition and light intensity were determined, stimulating the morphogenesis processes of poplars' microshoots. The general patterns of the PEG and NaCl influence on *Populus* F_1 hybrids' regenerants were determined, with an increase of its concentration in the media, there was an inhibit of morphogenesis processes, up to their complete stop, slowed the work of a photosynthetic apparatus and changes in the stomata cells. Adaptation reactions to the conditions of osmotic and salt stress were their ability to morphogenesis and regeneration. The selection of resistant to stress factors *Populus* F_1 genotypes made it possible to determine seven potentially drought-resistant and four salt-resistant candidates for further testing in the greenhouse complex conditions and field tests.
Conclusions: As a result of the studies, *in vitro* selective systems have been developed for the breeding of stable interspecific hybrid genotypes, which will reduce the time for selection of genotypes with given signs. The technology of obtaining the initial breeding material is optimized by the method of isolated embryos from immature embryos of *Populus* F_1 hybrids.
Funding: The study is supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the framework of the State Task No. 125021402244-3, and the Scientific grant from the Volgograd region No. 124012200177-7.

doi 10.18699/PlantGen-2025-291

Transcriptional activity of genes involved in the metabolism of abscisic acid in *Quercus robur* L. under drought conditions

P.A. Zybinskaya*, A.V. Tretyakova, P.A. Krylov
FSC of Agroecology, RAS, Volgograd, Russia
** zybinskaya-pa@vfanc.ru*

Motivation and aim: Evaluation of the transcriptional activity of genes involved in the abscisic acid metabolism in *Quercus robur* L. under soil drought conditions.
Materials and methods: *Q. robur* seedlings were divided into two groups of 10 plants each: control (75–80% moisture-holding capacity – MHC) and drought (8–12% MHC). Soil moisture was monitored daily using a Landtek MC-7828 SOIL moisture meter (AZ Instrument, China). Two weeks after the beginning of the experiment, leaf samples were collected, and total RNA was extracted using the R-Plants kit (Biolabmix, Russia) with DNase I treatment (Magen, China). RNA concentration was measured using a Qubit® 4 Fluorometer (Thermo Fisher Scientific, USA), while RNA quality was assessed based on A260/A280 and A260/A230 ratios using a SPECTROstar Nano spectrophotometer (BMG Labtech, Germany). Sequencing libraries were prepared following the Ligation Sequencing V14 protocol – Direct cDNA Sequencing (SQK-LSK114, version DCS_9187_v114_revI_31Jul2024). Sequencing was performed on a MinION device (Oxford Nanopore Technologies, UK) using MinKNOW 23.04.3 software. Base calling was conducted with the Dorado software (Oxford Nanopore, UK). Reads were mapped to the *Q. robur* reference genome (version 3.1, GCF_932294415.1) simultaneously with base calling. Gene read counts were quantified using samtools bedcov, and data normalization was performed using the RPG10K method (Reads Per Gene per 10,000 reads).
Results: The ZEP (zeaxanthin epoxidase) gene family exhibited high transcriptional activity in control group, particularly ZEP_LOC126725331 and ZEP_LOC126732772, with notable decrease under drought stress. This suggests that after two weeks of drought, the plants might have accumulated sufficient abscisic acid (ABA) levels to activate protective mechanisms. One of the key ABA biosynthesis regulators NCED1 and NCED2 (9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase) showed low transcriptional activity in both groups. Similarly, the oxidation-stage enzymes SDR (short-chain dehydrogenase/reductase) and AAO (abscisic-aldehyde oxidase) demonstrated generally low expression levels, though AAO activity was nearly two-fold higher under drought conditions. ABA-GT (abscisate beta-glucosyltransferase) genes, responsible for ABA inactivation and long-distance transport of inactivated ABA, displayed enhanced activity during drought. In contrast, other ABA inactivation genes CYP707A1/2 (abscisic acid 8'-hydroxylase) remained weakly expressed in both conditions. Among ABA receptors, only PYL2_LOC126725188 showed increased transcriptional activity under drought, while other receptors maintained similar transcriptional activity between control and drought-stressed plants.



Transcriptional activity of genes involved in the metabolism of abscisic acid in *Q. robur* under drought conditions, which were identified using ONT long-read RNA-Seq technology

Conclusions: The study revealed drought-induced changes in ABA metabolism-related gene expression in *Q. robur*, including decrease of ZEP genes activity and increase of AAO and certain ABA inactivation genes activity. These results demonstrate complex regulation of ABA biosynthesis and catabolism under drought conditions, though further research is needed to fully understand drought adaptation mechanisms, particularly through investigating ABA dynamics at different stress stages.
Funding: The research was carried out within the state assignment of Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation No. FNFE-2025-0013 "Regulation of gene expression involved in the adaptation to adverse environmental factors to improve economically valuable traits of woody and cultivated plants used in agroforestry".

doi 10.18699/PlantGen-2025-292

Авторский указатель / Author index

Абдукаримов Ш.С. 182
Абрамова А.А. 36
Авдеев С.М. 121
Агълямова А.Р. 69
Адамовская А.В. 37
Адонина И.Г. 130
Азаркина Р.А. 38
Азарова Д. 221
Айдаров А.Н. 225
Александров Е.Г. 39
Александров О.С. 40, 141
Александрович В.В. 193
Алексеев Я.И. 41
Алексеева В.В. 138
Алексеева Е.В. 42, 51
Алиев У. 161
Алимова А.Р. 114
Алкубеси М. 122
Алпатьева Н.В. 97
Алферов А.П. 78
Амосова А.В. 43, 104, 145
Андреева Е.А. 63, 219
Анисимова Н.В. 49
Анисимова О.К. 212
Аниськина Т.С. 44
Антакова Ю.А. 45, 189
Антимонова А.А. 89, 106
Антипин М.И. 100
Антипов А.Д. 46, 189
Антонова О.Ю. 68, 107, 167
Антошкин А.А. 123
Антропова Е.А. 37
Апарина В.А. 130, 164
Артемьева А.М. 43
Артемюк А.М. 47
Артюх Д.Ю. 226
Архипов А.А. 92, 190
Архипов А.В. 119, 129, 180
Асхабов Б.Х. 52
Афанасенко О.С. 48
Афонников Д.А. 66, 110, 112, 188, 196, 228
Афонникова С.Д. 153
Ахметова А.И. 99

Бабак О.Г. 49
Бабаков А.В. 171
Багаутдинова З. 221
Бадаева Е.Д. 67
Баженов М.С. 143, 146, 149, 180
Базюк Д.А. 62, 222
Балеев Д.Н. 155
Балтаева С.А. 159
Баранова Е.Н. 44
Барнашова Е.К. 192
Басов В.И. 50, 72, 73
Басхаева Т.Г. 51
Батов А.С. 86, 188
Батукаев А.А. 52, 53
Батукаев М.С. 52, 53
Башкирова К.А. 58
Бебякина И.В. 72, 73, 50
Безукладов И.В. 225
Белан И.А. 148
Белова М.К. 54
Белозерова А.А. 62, 222
Беляева А.И. 233
Бердников Р.В. 113
Бережная А.А. 206
Беспалова Л.А. 95, 119, 129
Бехтольд Н.П. 55, 156
Бибишев В.А. 50, 72
Бизякина Д.О. 56, 95
Битюкова О.В. 57
Блинков А.О. 56, 78, 95, 129, 146
Блохина Н.П. 148
Бобков С.В. 58
Бобохужаев Ш.У. 182
Бовин А.Д. 59, 81, 85, 127
Богданова Е.М. 60
Бойко Н.И. 229
Болдаков Д.М. 72, 73
Болотина А.А. 61
Боме Н.А. 62, 222
Борисенко Н.В. 230
Борхерт Е.В. 92
Брускин С.А. 71
Буланов А.Н. 63, 219
Булгаков В.П. 211
Бурлакова С.В. 229
Бурлаковский М.С. 57
Бурсаков С.А. 121
Буфенко В.С. 116
Быкова А.В. 64

Ваганова О.Ф. 125
Вайсфельд Л.И. 62
Валеева Л.Р. 183
Ванисов С.А. 60
Васильев Г.В. 76, 110
Веремейчик Г.Н. 198, 208, 217
Верещагин М.В. 36
Вернер А.О. 225
Вертикова Е.А. 192
Веселкин А.А. 173
Ветчинникова Л.В. 168
Виноградова А.О. 225
Власова А.В. 65
Войлоков А.В. 63, 219

Волков В.А. 168, 207, 224
Волкова Г.В. 125
Володин В.А. 41
Волянская А.Р. 37
Воропаева А.Д. 129

Гавриленко Т.А. 110
Гапоненко А.К. 218
Гараева Н.Ш. 165
Генаев М.А. 66, 110, 112
Герасимова С.В. 86
Геращенков Г.А. 230
Гладышева-Азгари М.В. 139
Гоголева О.А. 165
Гонсалес Франко М.Х. 67
Гончаренко А.О. 68
Гордей И.С. 226
Гордей С.И. 226
Горенкова А.И. 233
Горпенченко Т.Ю. 198, 220
Горшков В.Ю. 165, 166
Горшкова Т.А. 69
Горячкина О.В. 70
Григорчук В.П. 198, 208
Григорьева Е.И. 71, 116
Гурбанова О.Я. 159
Гуреева Ю.А. 86, 188
Гусар А.С. 109

Давоян Р.О. 50, 72, 73
Давоян Э.Р. 50, 72, 73
Давыденко О.Г. 193
Данелия Г.В. 60
Дворянинова Е.М. 190
Дегтяр И.В. 74
Дегтярёв Е.А. 138
Дегтярёва В.И. 138
Дейнеко Е.В. 214
Деменков П.С. 37
Деменчук Я.В. 75
Демурин Я.Н. 102
Денисов А.А. 76
Деревянко О.А. 116
Джатаев С.А. 216
Диброва Д.В. 96
Дивашук М.Г. 56, 67, 77, 78, 88, 95, 111, 119, 121, 122, 129, 143, 146, 149, 180, 201, 202, 232
Дмитриев А.А. 92, 190
Дмитриева А.Р. 78
Дмитриева М.В. 79
Добаркина Н.А. 93
Добродькин М.М. 49
Добряк И.С. 80
Долгих А.В. 81, 85, 108, 195
Долгих В.А. 134, 176, 177
Долгих Е.А. 59, 81, 85, 108, 127, 195
Долгов С.В. 138
Домблидес А.С. 123
Дрозд Е.В. 49
Дрыкин А.С. 82
Дубовец Н.И. 197
Дук М.А. 83
Душкин В.А. 84
Дымо А.М. 59, 85

Евдокимов М.Г. 83
Евлаков П.М. 210
Евлаш А.Я. 93
Евстигнеева А.В. 63, 219
Евтушенко Н.А. 210
Егорова А.А. 86
Егорова А.С. 218
Енгалычева И.А. 123
Ерёмин Д.И. 87, 132, 204
Ермолаев А.С. 88, 111, 119, 126, 129, 143, 180, 202
Ермошкина Н.Н. 147
Ерофеева Н.О. 71, 116
Ершова Н.М. 89, 106, 114
Ессе С.А. 225
Ефремова Е.П. 90, 158
Ефремова Т.Т. 91, 223

Жанбыршина Н.Ж. 216
Жданова И.В. 118
Жернова Д.А. 92
Жигунов А.В. 168
Журавлев И.Ю. 93

Зарецкая М.В. 94
Зверькова С.С. 42
Зеленина А.С. 95, 129
Землянская Е.В. 134, 176, 177, 191, 221
Земцова Л.В. 145
Зинченко А.Н. 50, 72, 73
Злобин А.С. 185
Зоркольцева И.В. 185
Зощук С.А. 43, 145
Зубанова Ю.С. 73
Зубкович А.А. 48
Зыкин П.А. 63, 219

Ибрагимова С.М. 110
Иванисенко В.А. 37
Иванисенко Т.В. 37
Иванов М.М. 96
Иванова Е.А. 97
Иванова И.О. 166
Иванова Н.Н. 118
Иванова Ю.С. 132
Ивахненко А.С. 98
Иконников А.В. 203
Илалова Л.В. 165
Ильина И.Ю. 99
Исаев С.С. 100
Истомина Е.А. 101

Казанцев М.Ю. 102
Казнина Н.М. 103
Калинина Н.О. 181, 199
Кальнюк Ю.В. 43, 104, 145
Камараули Е.Д. 65, 105
Камарова К.А. 89, 106, 114
Камнев А.М. 107
Канапин А.А. 83
Канунникова В.Ю. 146
Канцурова Е.С. 81, 85, 108, 127, 195
Капак Ю.В. 150
Каплун А.М. 190
Капустянчик С.Ю. 109
Карелова А.С. 225
Каретников Д.И. 110, 188
Каржаев Д.С. 168, 207, 224
Карлов В.Д. 171
Карлов Г.И. 88, 111, 129, 143, 180, 202
Касимов Н.Н. 116
Кашуба Ю.Н. 143, 180
Кильчевский А.В. 49, 157
Киров И.В. 61, 65, 79, 98, 102, 105, 135, 187
Кирпичникова А.А. 169
Киселева А.А. 130, 153, 206
Климушина М.В. 111, 121, 202
Ковалева О.Н. 167
Коваль В.С. 112
Ковальчук А.И. 233
Ковальчук А.М. 225
Ковальчук С.И. 38
Ковтуненко А.Н. 143, 180
Кожекин М.В. 66, 112
Козенкова П.И. 173
Козлов В.А. 154
Козлов Н.В. 127
Козюлина П.Ю. 85, 108
Колесникова Е.О. 113
Колоколова Н.Н. 62, 222
Колошина К.А. 188
Колубако А.В. 154
Комарова Т.В. 89, 106, 114
Комахин Р.А. 171
Коновалова А.С. 171
Константинов А.В. 115
Константинов Д.К. 71, 116
Константинов З.С. 117
Конышева М.Л. 41
Корзина Н.В. 118
Коробкова В.А. 95, 119, 129, 141
Коротков Е.В. 175
Короткова А.М. 206
Кост О.А. 99
Костина Н.Е. 86
Косяева Е.А. 91, 223
Кочетов А.В. 86, 110, 188, 206
Кочешкова А.А. 78, 95, 143, 149
Кочиева Е.З. 64, 120, 212
Краморенко Н.В. 227
Красноперова Е.Ю. 47
Кресамова А.А. 50, 72, 73
Креславский Вл.Д. 36
Криницына А.А. 75, 100
Кроль Т.А. 155
Крупин П.Ю. 88, 111, 119, 121, 122, 180, 201, 202, 232
Крупина А.Ю. 119, 122
Крупинская Е.С. 123
Кручинина Ю.В. 124
Крюков А.А. 233
Ксенофонтов Д.Е. 128
Кубарев Е.Н. 137
Куделина Т.Н. 115
Кудинова О.А. 125
Кудрявцева Л.П. 190
Кудрявцева Н.А. 126
Кудряшова Т.Р. 233
Кузбакова М.М. 216
Кузнецов В.В. 131
Кулеш П.А. 81, 127
Курбонов М.М. 160, 161
Кучарова Е.В. 128
Кырова Е.И. 48

Лаврeха В. 221
Лантушенко А.О. 74
Лаппо А.А. 95, 129, 146
Ларичев К.Т. 188
Латыпова А.А. 135
Лашина Н.М. 48
Лебедева М.А. 54
Лебедева М.В. 46, 82, 171, 172, 173, 189
Леонова И.Н. 130, 185, 200
Лесникова-Седошенко Н.Н. 118
Логачёва М.Д. 231
Лукина К.А. 167
Лутова Л.А. 47, 57, 90, 117, 158, 194
Лысенко Е.А. 131, 178
Любимова А.В. 132
Люсиков О.М. 226
Ляпина И.С. 133

Макаров С.С. 184
Макеева А.С. 38
Мальчиков П.Н. 130, 200
Мамаева А.С. 38
Мандрусова В.С. 226
Маннапова Г.С. 166
Мардини М. 65, 98
Маркова Е.Н. 93
Мартиновская Н.А. 49
Маслакова А.А. 134
Масленникова В.С. 152
Матиевская О.С. 226
Медведев Д.О. 71, 116
Мельникова Н.В. 92, 190
Меньков М.Т. 93
Меркулов П.Ю. 61, 65, 102, 135, 187

Метт М.Д. 136
Миков Д.С. 72, 73
Милько Л.В. 157
Мирзоали С. 137
Мироненко Н.В. 48
Миронова В.В. 176, 191
Мирошниченко Д.Н. 138
Митрофанова И.В. 139, 144
Мищенко В.Н. 150
Молканова О.И. 139
Молобекова К.А. 140
Монахова Ю.А. 41
Монахос М.Г. 141
Моргунов А.И. 142
Морозов А.И. 145
Мохов Т.Д. 143, 149
Моцарь Е.В. 144
Мудрова А.А. 119
Муравенко О.В. 43, 104, 145
Муратов Т.Р. 146
Мусинов К.К. 147
Мухина Я.В. 148
Мухордова М.Е. 143, 148, 180
Мясникова М.Г. 200

Нагамова В.М. 56
Наджодов Б.Б. 149
Наимов А.С. 160, 161
Налбандян А.А. 150
Некрашевич А.Ю. 151, 154
Нерсесян С.М. 152
Нестеров М.А. 110, 153, 206
Никаноркина В.В. 82, 171, 172
Никитина О.В. 75
Николайчик Е.А. 151, 154
Никольская Ю.С. 48
Никонович Т.В. 49
Никонорова Е.Р. 155
Новикова Д.Д. 191
Нопимбонг Нипимбо С.Б. 63, 219
Нуралиев М.С. 231

Одинцова Д.А. 100
Одинцова Т.И. 101
Омельянчук Н. 221
Орлов Ю.Л. 37
Орлова В.А. 57
Орлова Е.А. 55, 156, 229
Орловская О.А. 157
Охлопкова Ж.М. 128

Павлова Д.Б. 158
Павлова О.А. 59, 81, 85
Павлова С.Ю. 166
Падкина М.В. 57
Пак М.Э. 70
Палаева Д.О. 53
Палязова Я.З. 159
Панин В.М. 230
Пантелеев С.В. 115
Партоев К. 160, 161, 162
Парфенов Д.Ф. 116
Патрушев М.В. 110
Пашковский П.П. 36
Перевозчиков Д.В. 65
Пермякова Н.В. 214
Перфильева А.И. 163
Першина Л.А. 209
Петраш Н.В. 164
Петрова Н.В. 69
Пиголев А.В. 138
Пискарев В.В. 130, 200
Плугарь О.В. 205
Пожерукова В.Е. 225
Полховский А.В. 79
Полякова М.Н. 122
Пономарев С.Н. 165, 166
Пономарева М.Л. 165, 166
Пономарева С.В. 113
Попова Е.В. 99
Поротников И.В. 167
Потешкина А.А. 164
Потокина Е.К. 168, 207
Потоцкая И.В. 225
Поценковская Э.А. 117, 194
Пронозин А.Ю. 196
Пугачева И.Г. 49
Пугачева Н.С. 148
Пузанский Р.К. 60, 169
Пушин А.С. 138
Пушкова Е.Н. 92, 190
Пшеничникова Т.А. 170

Радзениеце С.Б. 56, 78, 95
Ражина О.Л. 82, 171, 172, 189
Ражина П.Л. 173
Разуваева А.В. 174
Разумова О.В. 67, 141
Ревель-Муроз А.Ж. 71, 116
Репкина Н.С. 103
Решетникова Г.Д. 63, 219
Рогозина Е.В. 97
Рожмина Т.А. 92, 190
Розанов А.С. 93
Розанова И.В. 48
Романов Д.В. 141
Романюк Д.А. 169
Россеева Л.П. 148
Рубец В.С. 56
Руденко В.Д. 125
Руденко В.М. 175
Руденко Т.С. 150
Рыбаков Д.А. 110
Рыбаков М.А. 176
Рябов Ю.А. 177

Сабоиев И.А. 188
Саввина Н.А. 131, 178
Савельева Ю.В. 179
Савин А.В. 184
Савин Т.В. 142
Савинова С.А. 41
Савченко Т.В. 138
Савченко Я.Ю. 114
Сайдалиев Н.Х. 137
Сайфутдинова Д.Д. 165
Салех С. 62
Салина Е.А. 110, 130, 153, 185, 188, 206, 215
Сальникова Е.А. 81, 108
Самарина М.А. 88, 111, 119, 121, 146, 180, 202
Самарская В.О. 181
Самсонова М.Г. 83
Санамьян М.Ф. 182
Санникова А.В. 183
Сапожников Н.А. 71, 116
Сарсенова С.Х. 230
Сатторов Б.Н. 137, 162
Сафронычева Е.Д. 168, 207, 224
Сахаров А.О. 184
Свищёва Г.Р. 185
Северова Е.Э. 75
Селиванов Н.Ю. 230
Селифонов И.В. 186
Семенов А.Р. 43, 104, 145
Серганова М.А. 135, 187
Сергеева Е.М. 188
Серёгина К.К. 189
Сигова Е.А. 190
Сидоренко А.Д. 134, 191, 221
Сидорчук Ю.В. 214
Сизова Т.В. 100
Силантьева С.А. 217
Симагин А.Д. 192
Симагина А.С. 192
Симоненко Д.С. 78
Синявская М.Г. 193
Скобеева В.А. 42, 51, 100
Сколотнева Е.С. 174, 229
Смирнов К.В. 194
Смирнова О.Г. 170
Смирнова Н.В. 81, 195
Смирнова О.Г. 215
Смотрова Ю.Н. 141
Смыкова Н.В. 118
Соболев К.В. 91, 223
Советов В.В. 112
Соколов В.С. 196
Соколова В.М. 232
Соколова Д.В. 43
Соколюк А.В. 197
Соловьев А.Г. 186
Соломатина Т.О. 198
Спеченкова Н.А. 199
Ставчанский О.А. 116
Стасюк А.И. 200
Стрембовский И.В. 129, 201, 202
Стрыгина К.В. 71
Субботин Е.П. 217
Суворова Г.Н. 203
Сулейманов Р.Д. 225
Сурначёв А.С. 147
Сущенко А. 172

Табанюхов К.А. 152
Тальянский М.Э. 181, 199
Таранов В.В. 45, 46, 82, 171, 172, 173, 189
Таутекенова А.К. 204
Творогова В.Е. 47, 90, 117, 158, 194
Тимин О.Ю. 205
Тимина О.О. 205
Тимонин В.Д. 57
Тимонова Е.М. 206
Тис М.В. 168, 207, 224
Тихомирова В.Е. 99
Тихонова О.А. 208
Тихонович И.А. 194
Томашова А.С. 193
Тоцкий И.В. 55
Тощаков С.В. 110
Третьякова И.Н. 70
Трипутин В.М. 143, 180
Трофимов А.С. 171
Трубачеева Н.В. 209
Тюрин К.Н. 102, 135
Тюрина Е.С. 93

Ульянов Д.С. 67, 88, 111, 119, 202, 232
Ульянова А.А. 122
Урбан Э.П. 226
Уткина В.В. 98
Федоренко О.М. 94
Федорова О.А. 210
Федотова К.С. 128
Федулова Т.П. 150
Федяев М.А. 116
Федяева А.В. 38, 133, 147
Фесенко И.А. 153, 229
Фиалко А.В. 211
Филюшин М.А. 120, 212
Фоменко В.В. 174, 229
Фомичева М.Г. 213
Франкевич Т.А. 214
Фролов А.А. 138

Хазиева Ф.М. 145
Хакимов М.Б. 215
Хасанова Г.Ж. 216
Хаскин К. 221
Хмарский А.Г. 49
Хопта А.А. 217
Хрусталева Л.И. 126

Царькова Е.А. 218
Цветкова Н.В. 63, 219
Цепилов Я.А. 185
Цыденешиева Ж.Л. 220

Чахеева Т.В. 200
Чеботарь В.К. 133
Челомбит С.В. 118
Черенко В. 221
Черепанов А.В. 62, 222
Черепухина И.В. 150
Черноок А.Г. 78, 121, 129, 149
Чижевская Е.П. 133
Чирков С.Н. 144
Чиркова Е.И. 50
Чудинов В.А. 142
Чуманова Е.В. 91, 223
Чурсин А.С. 225
Чухина И.Г. 107
Чухланцева К.В. 224

Шаварда А.Л. 60,169
Шаврукov Ю.Н. 216
Шакиров Е.В. 183
Шаманин В.П. 142, 225
Шамустакимова А.О. 84
Шарипова М.Р. 183
Шарко Ф.С. 144
Шаршавикова В.В. 224
Шатарнов О.П. 193
Шварцев А.А. 41
Шевелева А.А. 144
Шелихова Е.В. 152
Шепелев С.С. 225
Шешукова Е.В. 89, 106, 114
Шимко В.Е. 226
Шипилина Л.Ю. 93
Шишова М.Ф. 60, 169
Шкрыль Ю.Н. 211, 220
Шлихт А.Г. 227
Шмаков Н.А. 76, 110, 228
Шоева О.Ю. 55, 76, 80, 140
Шпигель А.Л. 83
Шруб Е.В. 151, 154
Шутенко С.Р. 116

Щенникова А.В. 64, 120, 212
Щербань А.Б. 174, 229

Эльконин Л.А. 230

Югай Ю.А. 211
Юдина С.В. 231
Юркевич О.Ю. 43, 104, 145
Юркина А.И. 67, 232
Юрков А.П. 233
Юсов В.С. 83, 142

Якунина С.А. 199
Ялтанская А.В. 187
Янборисов Р.Р. 81
Яновский А.С. 56, 95, 119, 129
Яцевич К.К. 49, 157
Яцык И.В. 37

Abdulkina L.R. 234, 268
Afonnikov D. 237, 249, 260, 274, 288, 289
Akram Z. 262
Alkubesi M. 235
Anisimova N.V. 238
Arkhipov A.V. 236
Artemiuk A.M. 286
Avdeev S.M. 236
Avzalov D.R. 237

Babak O.G. 238
Baik A.S. 263
Barilli E. 281
Barkovskaya A.M. 239
Bashir M.A. 240
Bazhenov M.S. 244
Ben C. 263, 281
Berezhnaya A.A. 241
Berezhneva Z.A. 242
Bizyakina D.O. 246
Blinkov A.O. 235, 236, 246
Bogomazova A.N. 257
Boldyrev S.V. 263, 281
Brynchikova A.V. 243, 286
Bursakov S.A. 244

Chao H. 37, 245
Chekunova E.M. 267
Chelombit S. 256
Chemezova A.A. 275
Chen M. 37, 245
Chernook A.G. 235, 246
Criollo L.M. 247

Dančák M. 231
Denisov A.A. 279
Dibrova D.V. 248
Divashuk M.G. 235, 236, 244, 246
Dolgov S. 256
Doroshkov A.V. 279
Drozd E.V. 238
Dubenko T.V. 286

Efremova E.P. 286
El Amil R. 281
Emirsaliev A. 249
Ershova A.N. 250
Fedyaeva A.V. 258
Fesenko I.N. 273
Fesenko N.N. 273

Ganaeva D.R. 251
Gavrilenko I. 256, 287
Genaev M.A. 260
Gentzbittel L. 263, 281
Glagoleva E.S. 234, 268
Gómez M.P. 238
González E.B. 238
Gordeeva E.I. 252
Gorshkov O. 266
Gorshkova T. 266

Hansson M. 279
Herrera Y.C. 238
Hroneš M. 231
Hussain T. 262

Ilina M. 276
Isaeva T.A. 259
Ivanov E.I. 280

Jana R.B. 269

Kanapin A.A. 283
Kanunnikova V.Yu. 236
Karlov G.I. 236, 244
Kasianova A.M. 251, 253, 259
Kelbin V.N. 254
Khakimova L.R. 264
Kharchenko P.N. 244
Kharchenko V. 255
Khusnutdinov E.A. 264
Khvatkov P. 256, 287
Kilchevsky A.V. 238
Kirov I.V. 271
Kirsanova N.A. 257
Kiseleva A.A. 241, 258
Klepikova A.V. 239, 251, 253, 259
Kocheshkova A.A. 236, 244, 246
Kolesnik N.V. 250
Komyshev E.G. 237, 260
Konstantinov Z.S. 286
Korobkova V.A. 246
Kroupin P.Yu. 236, 244
Krylov P.A. 291
Kuluev B.R. 242

Lappo A.A. 246
Lebedeva M.A. 261
Lem A. 266
Leonova I.N. 258
Li R. 279
Litvinov D.Yu. 244
Logacheva M.D. 234, 239, 240, 251, 253, 259, 268, 273
Lutova L.A. 243, 261, 272, 282, 286

Maalouf F. 281
Maletich G. 256
Malik M.A. 262
Marenkova A.G. 246
Martinovskaya N.A. 238
Menkov M.T. 289
Mentag R. 281
Meshcherov A.R. 263
Mikhaylova E.V. 264
Mitrofanova I. 249
Mogilevskaya I.V. 265, 290
Mokshina N. 266
Morozova E.V. 284

Nagamova V.M. 246
Nerezenko A.M. 267
Nurminskaya J.V. 275

Omelchenko D.O. 234, 240, 268
Omelchenko L.V. 234, 268
Orbant M.O. 279

Pavlov N.A. 269
Pavlova D.B. 286
Penin A.A. 239, 240, 251, 253, 259, 273
Perfil`ev R.N. 270
Petrash N.V. 284
Petrenko V.A. 261
Petrova N.V. 285
Pirsikov A.S. 257
Polkhovskiy A.V. 271
Potokina E. 247, 269, 278
Potsenkovskaia E.A. 243, 272, 282, 286
Prokopchuk S.R. 273
Pronozin A.Y. 274, 288
Pushin A. 256

Qadir G. 262

Radzeniece S. 246
Ramos T.H. 238
Rekoslavskaya N.I. 275
Rodríguez G.R. 238
Rojas-Bustos J.P. 269
Romashkina S.I. 236
Rozanova I.V. 289
Rozhmina T. 276
Rubiales D. 281
Rubtsova D.N. 261
Rumyantseva N.I. 240

Salina E.A. 241, 249, 254, 258, 270
Samsonova A.A. 283
Samsonova M.G. 276, 283
Schelkunov M.I. 273
Sedlov I.A. 277
Shabbir G. 262
Shafi A. 278
Shein M.Y. 264
Shmakov N.A. 274, 279
Shoeva O.Yu. 252, 279

Shtratnikova V.Yu. 280
Sidorov L.A. 281
Simonova V.Y. 243, 282, 286
Sinchenko A. 256
Skolotneva E.S. 254
Sluchanko N.N. 277
Smirnov K.V. 286
Stanin V.A. 276, 283
Stasyuk A.I. 258
Stepochkin P.I. 284
Stuart D. 279
Svistunova N.Yu. 236, 246
Syrchina N.G. 285

Terekhov M.P. 264
Tereshchenko T.V. 290
Timerbaev V. 256
Totsky I.V. 279
Tretyakova A.V. 275, 291
Tsyupka V. 287
Tvorogova V.E. 243, 272, 282, 286

Uppe V. 287

Vanina A.A. 286
Vasiliev G.V. 279
Virolainen P.A. 267
Vodiasova E. 256, 287

Wang Z. 245

Yakovleva D.V. 286
Yan J.T. 288
Yanushkevich M.A. 271
Yatsevich K.K. 238
Yudina S.V. 239

Zakhrabekova S. 279
Zamalutdinov A. 281
Zelenina A.S. 246
Zhang X.Y. 289
Zholobova O.O. 290
Zybinskaya P.A. 291

doi 10.18699/PlantGen-2025-300

Содержание / Contents

Адаптация *Arabidopsis thaliana* к повышенным дозам УФ-В излучения: роль сигнальных путей и световых рецепторов
А.А. Абрамова, М.В. Верещагин, П.П. Пашковский, Вл.Д. Креславский 36

Поиск генетических маркеров, ассоциированных со снижением устойчивости риса к *Rhizoctonia solani* при избытке азотных удобрений, на основе реконструкции и анализа генных сетей
А.В. Адамовская, Е.А. Антропова, А.Р. Волянская, П.С. Деменков, И.В. Яцык, Т.В. Иванисенко, Ю.Л. Орлов, H. Chao, M. Chen, В.А. Иванисенко 37

Анализ протеома и пептидома мягкой пшеницы *Triticum aestivum* в условиях засухи
Р.А. Азаркина, А.С. Мамаева, А.С. Макеева, С.И. Ковальчук, И.А. Фесенко 38

Роль генотипов растений в процессе поглощения углекислого газа атмосферы
Е.Г. Александров 39

Минисателлиты в геномах цитрусовых культур и возможность их использования для молекулярного маркирования
О.С. Александров 40

Современные отечественные разработки в области молекулярно-генетической диагностики растений
Я.И. Алексеев, А.А. Шварцев, С.А. Савинова, М.Л. Конышева, Ю.А. Монахова, В.А. Володин 41

К вопросу таксономии у близкородственных видов рода *Astragalus* секции Cenanthrum Koch
Е.В. Алексеева, В.А. Скобеева, С.С. Зверькова 42

Хромосомная организация кариотипов *Amaranthus cruentus* L. и *Amaranthus hypochondriacus* L.
А.В. Амосова, О.Ю. Юркевич, Ю.В. Кальнюк, А.Р. Семенов, Д.В. Соколова, А.М. Артемьева, С.А. Зощук, О.В. Муравенко 43

Фенотипирование зерновок пшеницы для установления связи с комплексом количественных признаков
Т.С. Аниськина, Е.Н. Баранова 44

Поиск генов-мишеней TAL-эффекторов *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* у крестоцветных культур
Ю.А. Антакова, В.В. Таранов 45

Изучение виромов картофеля (*Solanum tuberosum* L.) в России
А.Д. Антипов, В.В. Таранов, М.В. Лебедева 46

Изучение функций гена MtWOX2 у *Medicago truncatula*
А.М. Артемюк, В.Е. Творогова, Е.Ю. Красноперова, Л.А. Лутова 47

Валидация молекулярных маркеров локусов устойчивости ячменя к возбудителю сетчатой пятнистости
О.С. Афанасенко, Н.В. Мироненко, Н.М. Лашина, И.В. Розанова, Е.И. Кырова, Ю.С. Никольская, А.А. Зубкович 48

Изучение взаимосвязи проявления признаков биохимического состава плодов и урожайности у форм томата (*Solanum lycopersicum*) с различным комплексом аллелей качества плодов
О.Г. Бабак, Е.В. Дрозд, К.К. Яцевич, Н.В. Анисимова, Н.А. Мартиновская, И.Г. Пугачева, А.Г. Хмарский, Т.В. Никонович, М.М. Добродькин, А.В. Кильчевский 49

Получение и изучение линий удвоенных гаплоидов озимой мягкой пшеницы с чужеродным генетическим материалом *Aegilops umbellulata* и *Aegilops speltoides*
В.И. Басов, Э.Р. Давоян, А.А. Кресамова, А.Н. Зинченко, Е.И. Чиркова, В.А. Бибишев, И.В. Бебякина, Р.О. Давоян 50

К вопросу генетического разнообразия *Rhododendron adamsii* Rehder на территории Республики Бурятия
Т.Г. Басхаева, В.А. Скобеева, Е.В. Алексеева 51

Оптимизация приемов хемотерапии земляники садовой на этапе введения *in vitro*
А.А. Батукаев, Б.Х. Асхабов, М.С. Батукаев 52

Повышение регенерации растений винограда при введении *in vitro*
А.А. Батукаев, Д.О. Палаева, М.С. Батукаев 53

Оценка полиморфизма заразихи кумской (*Orobanche cumana* Wallr.) в разных локациях России
М.К. Белова, М.А. Лебедева 54

Генотипирование коллекционных образцов ярового ячменя на устойчивость к *Ustilago nuda* (Jens) Kell. et Sw. с использованием ДНК-маркеров
Н.П. Бехтольд, И.В. Тоцкий, Е.А. Орлова, О.Ю. Шоева 55

Чистые линии озимой твердой пшеницы: спидбридинг или удвоенные гаплоиды?
Д.О. Бизякина, В.С. Рубец, С. Радзениеце, В.М. Нагамова, А.О. Блинков, А.С. Яновский, М.Г. Дивашук 56

Увеличение эффективности трансгенных растений-продуцентов путем использования двойного терминатора в экспрессионной кассете
О.В. Битюкова, В.А. Орлова, М.С. Бурлаковский, В.Д. Тимонин, Л.А. Лутова, М.В. Падкина 57

Выделение источника высокого содержания хлорофилла у гороха *Pisum sativum* L.
С.В. Бобков, К.А. Башкирова 58

Роль G-бета-подобного белка в контроле клубенькообразования и развития боковых корней у гороха посевного и люцерны усеченной
А.Д. Бовин, О.А. Павлова, А.М. Дымо, Е.А. Долгих 59

Влияние сахарозы на метаболизм проростков табака
Е.М. Богданова, С.А. Ванисов, Г.В. Данелия, А.Л. Шаварда, М.Ф. Шишова, Р.К. Пузанский 60

Создание экспрессионного вирусного вектора с использованием синтетической ДНК последовательности
А.А. Болотина, П.Ю. Меркулов, И.В. Киров 61

Биологический эффект химического мутагена фосфемида на зерновых культурах (*Triticum aestivum* L., *Hordeum vulgare* L.) в Северном Зауралье
Н.А. Боме, А.А. Белозерова, Н.Н. Колоколова, Л.И. Вайсфельд, Д.А. Базюк, С. Салех, А.В. Черепанов 62

Молекулярно-генетическое изучение генов биосинтеза антоцианов, контролирующих окраску зерновки у ржи
А.Н. Буланов, Е.А. Андреева, П.А. Зыкин, Г.Д. Решетникова, А.В. Евстигнеева, С.Б. Нопимбонг Нипимбо, Н.В. Цветкова, А.В. Войлоков 63

Транскриптомный профайлинг клубней картофеля в динамике длительного холодового хранения
А.В. Быкова, Е.З. Кочиева, А.В. Щенникова 64

Новый подход к управлению мобиломом: вирус-опосредованная активация мобильных элементов в модельных и сельскохозяйственных растениях
А.В. Власова, Е.Д. Камараули, Д.В. Перевозчиков, М. Мардини, П.Ю. Меркулов, И.В. Киров 65

Методы анализа изображений для мониторинга грибных заболеваний на основе CNN и LLM сетей в полевых условиях
М.А. Генаев, М.В. Кожекин, Д.А. Афонников 66

Цитогенетический анализ повторяющихся последовательностей *Aegilops umbellulata*
М.Х. Гонсалес Франко, А.И. Юркина, Д.С. Ульянов, О.В. Разумова, Е.Д. Бадаева, М.Г. Дивашук 67

Характеристика аллельного состава S-локуса сортов груши Майкопской опытной станции – филиала ВИР
А.О. Гончаренко, О.Ю. Антонова 68

Лектины: мультиомиксный анализ вовлеченности в процессы роста и развития растений
Т.А. Горшкова, А.Р. Агълямова, Н.В. Петрова 69

Цитогенетическая стабильность длительно пролиферирующих клеточных линий *Larix sibirica* Ledeb.
О.В. Горячкина, М.Э. Пак, И.Н. Третьякова 70

Автоматизация анализа геномных данных и предиктивное моделирование в селекции растений с использованием интегрированной биоинформатической системы компании ООО "ПЛАСТИЛИН"
Е.И. Григорьева, Д.К. Константинов, Н.А. Сапожников, А.Ж. Ревель-Муроз, Н.О. Ерофеева, С.А. Брускин, К.В. Стрыгина, Д.О. Медведев 71

Влияние новой транслокации T3DS.3DL-3SL от *Aegilops speltoides* на морфо-биологические признаки сорта пшеницы мягкой озимой Гром
Р.О. Давоян, И.В. Бебякина, Э.Р. Давоян, Д.М. Болдаков, А.Н. Зинченко, В.А. Бибишев, В.И. Басов, А.А. Кресамова, Д.С. Миков 72

Аллельное разнообразие генов локусов *Vrn-1* и *Ppd-1* у интрогрессивных линий мягкой пшеницы
Э.Р. Давоян, И.В. Бебякина, Р.О. Давоян, Д.М. Болдаков, А.Н. Зинченко, Ю.С. Зубанова, В.И. Басов, А.А. Кресамова, Д.С. Миков 73

Видовая идентификация и содержание каротиноидов в микроводорослях рода *Dunaliella* из гиперсоленых озер Крыма
И.В. Дегтяр, А.О. Лантушенко 74

Определение таксономической принадлежности пыльцы и спор растений и грибов в аэробиологических образцах методом метабаркодинга
Я.В. Деменчук, О.В. Никитина, Е.Э. Северова, А.А. Криницына 75

Поиск генов, вовлеченных в регуляцию синтеза проантоцианидинов в зерне ячменя (*Hordeum vulgare* L.), на основе анализа транскриптомных данных
А.А. Денисов, Н.А. Шмаков, Г.В. Васильев, О.Ю. Шоева 76

Интеграция геномики, спидбридинга и биоинформатики как инструмент решения селекционных задач
М.Г. Дивашук 77

Сделать спидбридинг еще быстрее: новые факторы, влияющие на сокращение вегетационного периода кукурузы (*Zea mays* L.)
А.Р. Дмитриева, А.О. Блинков, Д.С. Симоненко, С.Б. Радзениеце, А.П. Алферов, А.А. Кочешкова, А.Г. Черноок, М.Г. Дивашук 78

Вирус-опосредованное геномное редактирование *Nicotiana benthamiana* для создания растений-продуцентов
М.В. Дмитриева, А.В. Полховский, И.В. Киров 79

Влияние генов *Blp1* и *Ppo2* на биохимические характеристики зерна ячменя (*Hordeum vulgare* L.)
И.С. Добряк, О.Ю. Шоева 80

Метаболическая инженерия растений как основа для регуляции специфичности и эффективности бобово-ризобиального симбиоза
Е.А. Долгих, Е.С. Канцурова, П.А. Кулеш, А.В. Долгих, О.А. Павлова, А.Д. Бовин, Н.В. Смирнова, Е.А. Сальникова, Р.Р. Янборисов 81

Создание генетических конструкций для экспрессии мутантных форм белка eIF4E и проверка их функциональности в дрожжах и растениях
А.С. Дрыкин, О.Л. Ражина, В.В. Никаноркина, М.В. Лебедева, В.В. Таранов 82

Полногеномный поиск вариантов, ассоциированных с урожайностью пшеницы
М.А. Дук, В.С. Юсов, М.Г. Евдокимов, А.А. Канапин, М.Г. Самсонова, А.Л. Шпигель 83

Поиск и идентификация ДНК-маркеров, ассоциированных с признаком многолисточковости у люцерны изменчивой (*Medicago varia* Mart) с использованием SRAP-анализа
В.А. Душкин, А.О. Шамустакимова 84

Регуляция активных форм кислорода и уровня паттерн-распознающих рецепторов под влиянием сигнальных молекул ризобий как основа развития бобово-ризобиального симбиоза
А.М. Дымо, П.Ю. Козюлина, О.А Павлова, Е.С. Канцурова, А.Д. Бовин, А.В. Долгих, Е.А. Долгих 85

Растения картофеля сорта Симфония с нокаутом по гену вакуолярной инвертазы: применения в селекции и в исследованиях механизмов регуляции углеводного метаболизма
А.А. Егорова, Ю.А. Гуреева, А.С. Батов, Н.Е. Костина, С.В. Герасимова, А.В. Кочетов 86

Состав свободных аминокислот в тканях овса посевного в условиях стрессового воздействия почвенного засоления
Д.И. Ерёмин 87

MDSearch: алгоритм выбора минимального информативного набора SNP для сравнительного анализа широкого спектра видов
А.С. Ермолаев, М.А. Самарина, Д.С. Ульянов, П.Ю. Крупин, Г.И. Карлов, М.Г. Дивашук 88

Исследование роли ксилоглюкан эндотрансглюкозилазы / гидролазы 19 *Nicotiana benthamiana* (NbXTH19) в развитии инфекции вируса табачной мозаики
Н.М. Ершова, Е.В. Шешукова, К.А. Камарова, А.А. Антимонова, Т.В. Комарова 89

Изучение влияния нокаута гена *MtWOX9-1* на способность растений *Medicago truncatula* к регенерации
Е.П. Ефремова, В.Е. Творогова, Л.А. Лутова 90

Пирамидирование различных чужеродных генов в геноме мягкой пшеницы с помощью ДНК-маркеров
Т.Т. Ефремова, Е.В. Чуманова, Е.А. Косяева, К.В. Соболев 91

Анализ экспрессии генов льна для представительной выборки органов/тканей
Д.А. Жернова, А.А. Архипов, Т.А. Рожмина, Е.В. Борхерт, Е.Н. Пушкова, Н.В. Мельникова, А.А. Дмитриев 92

Баркодирование ДНК растений на федеральной территории «Сириус»
И.Ю. Журавлев, Е.С. Тюрина, Е.Н. Маркова, Н.А. Добаркина, М.Т. Меньков, А.Я. Евлаш, Л.Ю. Шипилина, А.С. Розанов 93

Эпигенетические механизмы контроля экспрессии генов, участвующих в адаптации растений *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. на северной периферии ареала
М.В. Зарецкая, О.М. Федоренко 94

Разработка новой методики оценки морозостойкости озимой твердой пшеницы
А.С. Зеленина, В.А. Коробкова, Д.О. Бизякина, А.А. Лапло, С. Радзениеце, А.С. Яновский, Л.А. Беспалова, А.О. Блинков, А.А. Кочешкова, М.Г. Дивашук 95

Поиск редко встречающихся генов путем сравнительного анализа митохондриальных геномов зеленых растений, красных водорослей и фотосинтезирующих протистов
М.М. Иванов, Д.В. Диброва 96

CAPS-маркер для дифференциации аллелей гена *Rychc* у растений *Solanum chacoense* в коллекции ВИР
Е.А. Иванова, Н.В. Алпатьева, Е.В. Рогозина 97

Вирусная доставка белков для редактирований растений *Brassica napus* L.
А.С. Ивахненко, М. Мардини, В.В. Уткина, И.В. Киров 98

Наночастицы фосфата кальция как перспективные носители для доставки нуклеиновых кислот в растительные клетки
И.Ю. Ильина, Е.В. Попова, В.Е. Тихомирова, А.И. Ахметова, О.А. Кост 99

Генетическая структура популяций Рябчика шахматного *Fritillaria meleagris* в Средней России
С.С. Исаев, В.А. Скобеева, Т.В. Сизова, Д.А. Одинцова, М.И. Антипин, А.А. Криницына 100

Исследование экспрессии генов тауматиноподобных белков *Filipendula ulmaria* в ответ на заражение *Bipolaris sorokiniana* с использованием глубокого секвенирования транскриптомов
Е.А. Истомина, Т.И. Одинцова 101

Структурные и эволюционные особенности активных ретротранспозонов подсолнечника
М.Ю. Казанцев, П.Ю. Меркулов, К.Н. Тюрин, Я.Н. Демурин, И.В. Киров 102

Участие гена SaCAX в устойчивости растений *Sinapis alba* L. к раздельному и одновременному действию избытка цинка и низкой температуры
Н.М. Казнина, Н.С. Репкина 103

Кариогеномика шалфея карабахского *Salvia karabachensis* Pobed.
Ю.В. Кальнюк, А.Р. Семенов, О.Ю. Юркевич, А.В. Амосова, О.В. Муравенко 104

Создание транспозон-ассоциированной репортерной системы для изучения мобилома растений
Е.Д. Камараули, И.В. Киров 105

Ксилоглюкан эндотрансглюкозилаза/гидролаза 19 *Nicotiana benthamiana* влияет на межклеточный транспорт макромолекул
К.А. Камарова, Н.М. Ершова, Е.В. Шешукова, А.А. Антимонова, Т.В. Комарова 106

Разнообразие пластотипов представителей подрода *Idaeobatus* Focke рода *Rubus* L. на территории Русского Алтая
А.М. Камнев, О.Ю. Антонова, И.Г. Чухина 107

Роль регуляторных элементов промотора гена транскрипционного фактора NIN и структурных особенностей его доменов в регуляции поздних стадий органогенеза клубеньков у бобовых
Е.С. Канцурова, А.В. Долгих, П.Ю. Козюлина, Е.А. Сальникова, Е.А. Долгих 108

Изучение качества клеточных стенок у ресурсных видов рода *Miscanthus* Anderss. для получения более качественной лигноцеллюлозной биомассы
С.Ю. Капустянчик, А.С. Гусар 109

Анализ вариаций в геномах картофеля на основе данных полногеномного секвенирования
Д.И. Каретников, Г.В. Васильев, С.В. Тощаков, Н.А. Шмаков, М.А. Генаев, М.А. Нестеров, С.М. Ибрагимова, Д.А. Рыбаков, Т.А. Гавриленко, Е.А. Салина, М.В. Патрушев, А.В. Кочетов, Д.А. Афонников 110

Разработка набора SSR-маркеров для сортовой идентификации сои
М.В. Климушина, М.А. Самарина, Д.С. Ульянов, А.С. Ермолаев, П.Ю. Крупин, Г.И. Карлов, М.Г. Дивашук 111

Повышение точности обнаружения колосьев на полевых изображениях на основе глубокого машинного обучения без учителя
М.В. Кожекин, В.С. Коваль, М.А. Генаев, В.В. Советов, Д.А. Афонников 112

Молекулярно-генетический и цитологический контроль *Beta vulgaris* L.
Е.О. Колесникова, С.В. Пономарева, Р.В. Бердников 113

Особенности активации экспрессии гена *ViB3 Nicotiana benthamiana*
Т.В. Комарова, А.Р. Алимова, Я.Ю. Савченко, Е.В. Шешукова, К.А. Камарова, Н.М. Ершова 114

Оценка редокс-статуса генетически вариабельных *in vitro* культур гибридной березы по данным активности пероксидазы и каталазы
А.В. Константинов, Т.Н. Куделина, С.В. Пантелеев 115

Цифровизация селекционного процесса: платформа для ведения геномной селекции растений компании ООО "Пластилин"
Д.К. Константинов, Е.И. Григорьева, Н.А. Сапожников, С.Р. Шутенко, Д.Ф. Парфенов, О.А. Ставчанский, О.А. Деревянко, В.С. Буфенко, М.А. Федяев, Н.Н. Касимов, Н.О. Ерофеева, А.Ж. Ревель-Муроз, Д.О. Медведев 116

Идентификация генов-репрессоров соматического эмбриогенеза у *Medicago truncatula*
З.С. Константинов, В.Е. Творогова, Э.А. Поценковская, Л.А. Лутова 117

Биотехнологические приемы поддержания коллекции *Chrysanthemum* × *morifolium* Ramat. *in vitro*
Н.В. Корзина, Н.Н. Иванова, Н.Н. Лесникова-Седошенко, И.В. Жданова, С.В. Челомбит, Н.В. Смыкова 118

Изучение коллекции твердой пшеницы НЦЗ им. П.П. Лукьяненко по аллельным вариантам генов, оказывающих влияние на хозяйственно ценные признаки
В.А. Коробкова, А.С. Яновский, А.Ю. Крупина, А.С. Ермолаев, П.Ю. Крупин, М.А. Самарина, Л.А. Беспалова, А.В. Архипов, Д.С. Ульянов, А.А. Мудрова, М.Г. Дивашук 119

Профили экспрессии генов транскрипционных факторов подсемейства DREB2 в динамике солевого стресса и послестрессового восстановления растений томата
Е.З. Кочиева, М.А. Филюшин, А.В. Щенникова 120

Набор SSR-маркеров для использования в маркер-опосредованной селекции капусты белокочанной (*Brassica oleracea* var. *capitata*)
П.Ю. Крупин, А.Г. Черноок, С.А. Бурсаков, М.В. Климушина, М.А. Самарина, С.М. Авдеев, М.Г. Дивашук 121

Влияние увеличенной дозы фосфорного питания на онтогенез сахарной свёклы при выращивании в условиях закрытого грунта методом speed breeding
А.Ю. Крупина, П.Ю. Крупин, М.Н. Полякова, М. Алкубеси, А.А. Ульянова, М.Г. Дивашук 122

Поиск источников генетической устойчивости к вирусу обыкновенной мозаики (Bean common mosaic virus, BCMV) среди селекционных образцов фасоли овощной (*Phaseolus vulgaris* L.)
Е.С. Крупинская, А.С. Домблидес, И.А. Енгалычева, А.А. Антошкин 123

Генетический анализ гибридных популяций тетраплоидных видов пшеницы
Ю.В. Кручинина 124

Вирулентность популяции *Puccinia triticina*, собранной на озимой мягкой пшенице и эгилопсе в условиях юга России
О.А. Кудинова, В.Д. Руденко, О.Ф. Ваганова, Г.В. Волкова 125

Метод приготовления препаратов пахитенных хромосом видов с крупным геномом для иммунолокализации мейотических белков
Н.А. Кудрявцева, А.С. Ермолаев, Л.И. Хрусталева 126

Изучение влияния митоген активируемой протеинкиназы 6 (MAPK6) на эффективность развития симбиоза у гороха посевного для повышения его продуктивности
П.А. Кулеш, Е.С. Канцурова, А.Д. Бовин, Н.В. Козлов, Е.А. Долгих 127

Введение в культуру *in vitro* эндемика Центральной Якутии, редкого растения *Thermopsis jacutica* (Czefr.) Schreter
Е.В. Кучарова, К.С. Федотова, Д.Е. Ксенофонтов, Ж.М. Охлопкова 128

Изучение коллекции озимой твердой пшеницы по генам, оказывающим прямое и опосредованное влияние на морозостойкость растений
А.А. Лаппо, А.Г. Черноок, В.А. Коробкова, А.О. Блинков, А.С. Зеленина, А.В. Архипов, А.С. Ермолаев, И.В. Стрембовский, А.С. Яновский, Л.А. Беспалова, А.Д. Воропаева, Г.И. Карлов, М.Г. Дивашук 129

Минеральный состав зерна мягкой и твердой пшеницы: атлас картированных QTLs
И.Н. Леонова, А.А. Киселева, И.Г. Адонина, П.Н. Мальчиков, В.В. Пискарев, В.А. Апарина, Е.А. Салина 130

Влияние кадмия и теплового шока на процессы в хлоропластах
Е.А. Лысенко, Н.А. Саввина, В.В. Кузнецов 131

Эффективность использования метода электрофореза проламинов в первичном семеноводстве зерновых культур
А.В. Любимова, Д.И. Ерёмин, Ю.С. Иванова 132

Микробиомный анализ восстанавливающихся после высыхания растений и ризосферных почв
И.С. Ляпина, В.К. Чеботарь, Е.П. Чижевская, И.А. Фесенко 133

Роль вариантов сайта связывания транскрипционного фактора ETHYLENE-INSENSITIVE3 в модуляции транскрипционного ответа генов на этилен у *Arabidopsis thaliana* L.
А.А. Маслакова, В.А. Долгих, А.Д. Сидоренко, Е.В. Землянская 134

Транскриптомные и эпигенетические изменения, вызванные новыми инсерциями мобильных элементов в геноме *Arabidopsis thaliana*
П.Ю. Меркулов, К.Н. Тюрин, А.А. Латыпова, М.А. Серганова, И.В. Киров 135

Генотипирование образцов яровой мягкой пшеницы различного происхождения по генам *Ppd* и *Vrn* для использования в селекции на скороспелость в Нечерноземной зоне России
М.Д. Метт 136

Топинамбур (*Helianthus tuberosus* L.) и его изучение в условиях Таджикистана
С. Мирзоали, Б.Н. Сатторов, Н.Х. Сайдалиев, Е.Н. Кубарев 137

Генетическая модификация пути биосинтеза жасмонатов в пшенице
Д.Н. Мирошниченко, А.В. Пиголев, Е.А. Дегтярёв, А.С. Пушин, В.И. Дегтярёва, В.В. Алексеева, А.А. Фролов, С.В. Долгов, Т.В. Савченко 138

Биотехнологические и геномные исследования плодовых и ягодных культур
И.В. Митрофанова, О.И. Молканова, М.В. Гладышева-Азгари 139

Картирование гена *Ant26*, контролирующего синтез проантоцианидинов в зерне ячменя (*Hordeum vulgare* L.)
К.А. Молобекова, О.Ю. Шоева 140

Создание кДНК библиотек растений рода *Citrus* для разработки цитогенетических маркеров
М.Г. Монахос, О.С. Александров, В.А. Коробкова, О.В. Разумова, Ю.Н. Смотрова, Д.В. Романов 141

25 лет Казахстанско-Сибирской сети по улучшению яровой пшеницы: взаимодействие генотип–среда, мягкая *vs* твердая, эффекты генов и чемпионы урожайности
А.И. Моргунов, Т.В. Савин, В.А. Чудинов, В.С. Юсов, В.П. Шаманин 142

Гены азотного обмена в структуре урожая мягкой пшеницы в условиях Омской области
Т.Д. Мохов, А.А. Кочешкова, М.С. Баженов, А.С. Ермолаев, В.М. Трипутин, Ю.Н. Кашуба, А.Н. Ковтуненко, М.Е. Мухордова, М.Г. Дивашук, Г.И. Карлов 143

Новый баднавирус крапивы: обнаружение, секвенирование и анализ генома
Е.В. Моцарь, А.А. Шевелева, Ф.С. Шарко, И.В. Митрофанова, С.Н. Чирков 144

Изучение репитома и хромосомной локализации сателлитных ДНК в геноме *Polemonium caeruleum* L.
О.В. Муравенко, О.Ю. Юркевич, А.Р. Семенов, Ф.М. Хазиева, А.И. Морозов, Ю.В. Кальнюк, Л.В. Земцова, С.А. Зощук, А.В. Амосова 145

Разработка методологии спидбридинга подсолнечника
Т.Р. Муратов, М.А. Самарина, В.Ю. Канунникова, М.С. Баженов, А.А. Лаппо, А.О. Блинков, М.Г. Дивашук 146

Перезимовка растений озимой пшеницы в зависимости от осеннего развития при различных сроках сева в условиях Западной Сибири
К.К. Мусинов, А.С. Сурначёв, Н.Н. Ермошкина, А.В. Федяева 147

Генетический профиль сортов пшеницы мягкой яровой, созданных в ФГБНУ «Омский АНЦ»
М.Е. Мухордова, И.А. Белан, Н.П. Блохина, Я.В. Мухина, Н.С. Пугачева, Л.П. Россеева 148

Корреляция сроков развития яровой мягкой пшеницы в контролируемой среде и поле как инструмент отбора на раннеспелость
Б.Б. Наджодов, Т.Д. Мохов, А.Г. Черноок, А.А. Кочешкова, М.С. Баженов, М.Г. Дивашук 149

Вариации гена BTC1, контролирующего время цветения сахарной свёклы
А.А. Налбандян, Т.С. Руденко, Т.П. Федулова, И.В. Черепухина, Ю.В. Капак, В.Н. Мищенко 150

Анализ геномов органелл *Solanum hjertingii*
А.Ю. Некрашевич, Е.В. Шруб, Е.А. Николайчик 151

Биологическая активность штаммов PGPR по фиксации атмосферного азота и солюбилизации неорганических и органических фосфатов
С.М. Нерсесян, В.С. Масленникова, Е.В. Шелихова, К.А. Табанюхов 152

Поиск и разработка маркеров к генам устойчивости к прорастанию на корню мягкой пшеницы
М.А. Нестеров, А.А. Киселева, С.Д. Афонникова, А.В. Федяева, Е.А. Салина 153

Геномика устойчивости картофеля к пектобактериозам
Е.А. Николайчик, А.В. Колубако, Е.В. Шруб, А.Ю. Некрашевич, В.А. Козлов 154

Поиск бифункциональных 3-дегидрохинатадегидратазы/шикиматдегидрогеназ *Cornus sericea* L. на основе *de novo* секвенирования транскриптома
Е.Р. Никонорова, Т.А. Кроль, Д.Н. Балеев 155

Эффективные *Ut* гены в селекции яровой пшеницы на устойчивость к *Ustilago tritici* (pers.)
Е.А. Орлова, Н.П. Бехтольд 156

Ассоциация генов, контролирующих синтез крахмала, с основными признаками продуктивности у линий мягкой пшеницы с чужеродным генетическим материалом
О.А. Орловская, К.К. Яцевич, Л.В. Милько, А.В. Кильчевский 157

Роль различных доменов *MtWOX9-1* в стимуляции соматического эмбриогенеза у *Medicago truncatula*
Д.Б. Павлова, Е.П. Ефремова, В.Е. Творогова, Л.А. Лутова 158

Значение растения эйхорния в очистке сточных вод Туркменистана
Я.З. Палязова, С.А. Балтаева, О.Я. Гурбанова 159

О гетерозисе и доминировании полигенных признаков у гибридов F_1 картофеля в горной зоне Таджикистана
К. Партоев, М.М. Курбонов, А.С. Наимов 160

О достижениях селекции и биотехнологии картофеля в Таджикистане
К. Партоев, М. Курбонов, А. Наимов, У. Алиев 161

Скороспелость и продуктивность – основные генетические признаки у пшеницы в условиях Таджикистана
К. Партоев, Б.Н. Сатторов 162

Новые подходы для профилактики бактериальных заболеваний сельскохозяйственных растений с использованием инновационных наноструктурируемых биосовместимых веществ
А.И. Перфильева 163

Создание и оценка линий удвоенных гаплоидов мягкой пшеницы с генами устойчивости к грибным болезням
Н.В. Петраш, В.А. Апарина, А.А. Потешкина 164

Развитие фунгицид-устойчивости и ее обнаружение на примере *Microdochium nivale*
С.Н. Пономарев, О.А. Гоголева, М.Л. Пономарева, В.Ю. Горшков, Н.Ш. Гараева, Д.Д. Сайфутдинова, Л.В. Илалова 165

Расширение генетического разнообразия источников устойчивости озимой ржи к снежной плесени
М.Л. Пономарева, С.Н. Пономарев, Г.С. Маннапова, С.Ю. Павлова, И.О. Иванова, В.Ю. Горшков 166

In silico-анализ полиморфизма генов, контролирующих высоту растений, в пангеноме ячменя
И.В. Поротников, К.А. Лукина, О.Ю. Антонова, О.Н. Ковалева 167

Генетические детерминанты узорчатой древесины у карельской березы
Е.К. Потокина, Д.С. Каржаев, М.В. Тис, Е.Д. Сафронычева, В.А. Волков, Л.В. Ветчинникова, А.В. Жигунов 168

Анализ влияния нарушений работы авто- и гетеротрофных механизмов ассимиляции углерода и энергии на метаболизм *Chlamydomonas reinhardtii*
Р.К. Пузанский, А.А. Кирпичникова, Д.А. Романюк, А.Л. Шаварда, М.Ф. Шишова 169

Селекционный потенциал интрогрессии в хромосому 5D яровой мягкой пшеницы от вида *Aegilops tauschii*, связанной с размером корневой системы
Т.А. Пшеничникова, О.Г. Смирнова 170

Опыт редактирования растений семейства Solanaceae: трудности и решения
О.Л. Ражина, А.С. Коновалова, В.В. Никаноркина, А.С. Трофимов, В.Д. Карлов, М.В. Лебедева, Р.А. Комахин, В.В. Таранов, А.В. Бабаков 171

Оценка взаимодействия факторов инициации трансляции eIF4E с белком VPg Y-вирус картофеля *in planta*
О.Л. Ражина, В.В. Никаноркина, А. Сущенко, М.В. Лебедева, В.В. Таранов 172

Методы агробактериальной трансформации различных сортов *Camelina sativa* L.
П.Л. Ражина, А.А. Веселкин, П.И. Козенкова, М.В. Лебедева, В.В. Таранов 173

Влияние новохизоля на экспрессию генов, обеспечивающих устойчивость мягкой пшеницы к стеблевой ржавчине
А.В. Разуваева, Е.С. Сколотнева, В.В. Фоменко, А.Б. Щербань 174

Множественные дивергированные дисперсные повторы в геноме риса
В.М. Руденко, Е.В. Коротков 175

Программное средство iSensor для визуализации ответа на фитогормоны в растительных тканях по данным scRNA-seq
М.А. Рыбаков, Е.В. Землянская, В.А. Долгих, В.В. Миронова 176

Кооперативное действие транскрипционных факторов в регуляции первичного транскрипционного ответа генов на цитокинины у *Arabidopsis thaliana* L.
Ю.А. Рябов, В.А. Долгих, Е.В. Землянская 177

Влияние теплового шока на редактирование мРНК ndhB
Н.А. Саввина, Е.А. Лысенко 178

Солевой стресс сортов овса Тюменской селекции
Ю.В. Савельева 179

Разработка и валидация KASP-маркеров для селекции озимой пшеницы
М.А. Самарина, М.С. Баженов, А.С. Ермолаев, А.В. Архипов, В.М. Трипутин, Ю.Н. Кашуба, А.Н. Ковтуненко, М.Е. Мухордова, П.Ю. Крупин, Г.И. Карлов, М.Г. Дивашук 180

Определение новых рекомбинантных штаммов Y вируса картофеля для дизайна двуцепочечной РНК
В.О. Самарская, Н.О. Калинина, М.Э. Тальянский 181

Идентификация чужеродной хромосомы 2 вида *Gossypium barbadense* L. в беккроссных потомствах хлопчатника с помощью двойного скрининга
М.Ф. Санамьян, Ш.У. Бобохужаев, Ш.С. Абдукаримов* 182

Влияние ионов тяжелых металлов на длину теломер у *Marchantia polymorpha*
А.В. Санникова, М.Р. Шарипова, Е.В. Шакиров, Л.Р. Валеева 183

Особенности укоренения *in vitro* сортов княженики (*Rubus arctucus* L.) финской селекции
А.О. Сахаров, С.С. Макаров, А.В. Савин 184

Оценка селекционной ценности образцов мягкой яровой пшеницы по массе 1000 зерен и массе зерна с растения с использованием BLUP-модели
Г.Р. Свищёва, А.С. Злобин, И.В. Зоркольцева, Я.А. Цепилов, И.Н. Леонова, Е.А. Салина 185

Сайленсинг генов AKR2 в растениях *Nicotiana benthamiana*
И.В. Селифонов, А.Г. Соловьев 186

Создание и характеристика инсерционной коллекции *Arabidopsis thaliana* для изучения мобилома и функциональной геномики
М.А. Серганова, П.Ю. Меркулов, А.В. Ялтанская, И.В. Киров 187

Аллельный полиморфизм генов углеводного обмена у отечественных сортов картофеля с различающимся содержанием крахмала и редуцирующих сахаров в клубнях
Е.М. Сергеева, Д.И. Каретников, А.С. Батов, Ю.А. Гуреева, И.А. Сабоиев, К.Т. Ларичев, К.А. Колошина, Д.А. Афонников, Е.А. Салина, А.В. Кочетов 188

Регуляция экспрессии генов капусты *Brassica oleracea* TAL-эффекторами при заражении бактерией *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*
К.К. Серёгина, Ю.А. Антакова, А.Д. Антипов, О.Л. Ражина, М.В. Лебедева, В.В. Таранов 189

Геномное разнообразие фитопатогена льна *Colletotrichum lini*
Е.А. Сигова, Е.М. Дворянинова, Т.А. Рожмина, Л.П. Кудрявцева, А.М. Каплун, А.А. Архипов, Е.Н. Пушкова, Н.В. Мельникова, А.А. Дмитриев 190

Ауксин и цитокинин регулируют тканеспецифическую экспрессию гена *MAKR6* у *Arabidopsis thaliana* L.
А.Д. Сидоренко, Д.Д. Новикова, В.В. Миронова, Е.В. Землянская 191

Исследование коллекции масличного льна на наличие генов низкой линоленовости
А.Д. Симагин, А.С. Симагина, Е.А. Вертикова, Е.К. Барнашова 192

Поиск ДНК-маркеров к признаку содержание белка у сои: сравнительное исследование группы сортов
М.Г. Синявская, А.С. Томашова, В.В. Александрович, О.П. Шатарнов, О.Г. Давыденко 193

Изучение транскриптомных профилей контрастных линий *Medicago truncatula* в ходе соматического эмбриогенеза
К.В. Смирнов, В.Е. Творогова, Э.А. Поценковская, И.А. Тихонович, Л.А. Лутова 194

Поиск и изучение роли микроРНК в подавлении иммунного ответа у бобовых растений при развитии эффективного внутриклеточного симбиоза *Pisum sativum* L.
Н.В. Смирнова, А.В. Долгих, Е.С. Канцурова, Е.А. Долгих 195

Предсказание класса длинных некодирующих РНК по расположению в геноме методами глубокого машинного обучения
В.С. Соколов, А.Ю. Пронозин, Д.А. Афонников 196

Исследование изменчивости хлоропластного генома секалотритикум методом NGS
А.В. Соколюк, Н.И. Дубовец 197

Ауксин-зависимая регуляция гомеостаза АФК в *rolA*-трансгенных клеточных культурах *Rubia cordifolia* L.
Т.О. Соломатина, Г.Н. Веремейчик, Т.Ю. Горпенченко, В.П. Григорчук 198

Ингибирование поли(АДФ)-рибозилирования у патогенов растений как способ защиты картофеля от фитофтороза
Н.А. Спеченкова, Н.О. Калинина, С.А. Якунина, М.Э. Тальянский 199

Анализ содержания желтых пигментов в зерне образцов коллекции твердой пшеницы
А.И. Стасюк, И.Н. Леонова, П.Н. Мальчиков, В.В. Пискарев, Т.В. Чахеева, М.Г. Мясникова 200

Формирование панели ДНК-маркеров для молекулярно-генетического анализа коллекции сои на аллельное состояние генов, отвечающих за синтез и накопление запасных белков сои (*Glycine max* L.)
И.В. Стрембовский, П.Ю. Крупин, М.Г. Дивашук 201

Пайплайн для отбора минимального паспортизующего набора однонуклеотидных полиморфизмов (SNP): опыт с соей культурной (*Glycine max* L.)
И.В. Стрембовский, Д.С. Ульянов, М.В. Климушина, М.А. Самарина, А.С. Ермолаев, П.Ю. Крупин, Г.И. Карлов, М.Г. Дивашук 202

Генетический контроль черной окраски семенной кожуры чечевицы *Lens culinaris* Medik.
Г.Н. Суворова, А.В. Иконников 203

Эффективность генов *Pc* к расам корончатой ржавчины (*Puccinia coronata* Corda) овса в условиях Северного Зауралья
А.К. Таутекенова, Д.И. Ерёмин 204

Особенности укоренения микропобегов различных генотипов дуба черешчатого в культуре *in vitro* после длительного культивирования на среде для мультипликации
О.О. Тимина, О.Ю. Тимин, О.В. Плугарь 205

Экспрессия химерного комплекса генов регуляторов роста пшеницы *GRF4-GIF1* значительно повышает эффективность трансформации и редактирования генов у культивируемых сортов ячменя
Е.М. Тимонова, А.А. Киселева, А.А. Бережная, М.А. Нестеров, А.М. Короткова, А.В. Кочетов, Е.А. Салина 206

Верификация результатов поиска генетических детерминант узорчатости древесины у карельской березы на независимой выборке
М.В. Тис, В.А. Волков, Д.С. Каржаев, Е.Д. Сафронычева, Е.К. Потокина 207

Влияние трансформации растений табака (*Nicotiana tabacum* L.) геном *AtCPK1* с мутацией в соединительном домене на старение, вызванное тепловым стрессом
О.А. Тихонова, Г.Н. Веремейчик, В.П. Григорчук 208

Особенности получения эуплазматических линий *Triticum aestivum* с замещением хромосом пшеницы на хромосомы дикого ячменя *Hordeum marinum* ssp. *gussoneanum* (4×)
Н.В. Трубачеева, Л.А. Першина 209

Особенности клонального микроразмножения гибридов тополя, перспективных для выращивания в Воронежской области
О.А. Федорова, Н.А. Евтушенко, П.М. Евлаков 210

Роль гена *HOS1 Arabidopsis thaliana* в адаптации к холодовому стрессу
А.В. Фиалко, Ю.А. Югай, Ю.Н. Шкрыль, В.П. Булгаков 211

Гены халконсинтаз вовлечены в ответные реакции растений чеснока (*Allium sativum*) на абиотические стрессы
М.А. Филюшин, О.К. Анисимова, А.В. Щенникова, Е.З. Кочиева 212

Эмбриоиды моркови (*Daucus carota* L.) как удобный объект для тестирования действия различных веществ на примере разработки протокола удвоения генома для производства удвоенных гаплоидов
М.Г. Фомичева 213

Изменение агрегативности клеток в суспензионной культуре *Arabidopsis thaliana* при нокауте генов семейства GAUT
Т.А. Франкевич, Н.В. Пермякова, Ю.В. Сидорчук, Е.В. Дейнеко 214

Анализ полиморфизма генов восстановления фертильности Rf_1 и Rf_2 у *Beta vulgaris* L.
М.Б. Хакимов, О.Г. Смирнова, Е.А. Салина 215

Маркер-опосредованная селекция чечевицы в условиях Северного Казахстана
Г.Ж. Хасанова, С.А. Джатаев, М.М. Кузбакова, Н.Ж. Жанбыршина, Ю.Н. Шавруков 216

Светозависимая регуляция биосинтеза эфиров шиконина в 30-летней клеточной линии воробейника *Lithospermum erythrorhizon*
А.А. Хопта, С.А. Силантьева, Е.П. Субботин, Г.Н. Веремейчик 217

Возможность создания продуктивного каучуконоса методами генной инженерии, растущего в средней полосе России
Е.А. Царькова, А.С. Егорова, А.К. Гапоненко 218

Молекулярно-генетический анализ мутации безантоциановости *vi3* у ржи
Н.В. Цветкова, А.Н. Буланов, С.Б. Нопимбонг Нипимбо, П.А. Зыкин, А.В. Евстигнеева, Г.Д. Решетникова, Е.А. Андреева, А.В. Войлоков 219

Наноплатформа для доставки микроРНК на основе экзосом *Nicotiana tabacum*
Ж.Л. Цыденешиева, Ю.Н. Шкрыль, Т.Ю. Горпенченко 220

Гормональная регуляция клеточной динамики в корневом чехлике *Arabidopsis thaliana* L.
В. Черенко, К. Хаскин, А. Сидоренко, З. Багаутдинова, Д. Азарова, В. Лавреха, Н. Омельянчук, Е. Землянская 221

Фенотипирование как метод комплексной оценки функционального назначения овса (*Avena sativa* L.) различного эколого-географического происхождения в условиях юга Тюменской области
А.В. Черепанов, Н.А. Боме, Н.Н. Колоколова, Д.А. Базюк, А.А. Белозерова 222

Маркер-контролируемое получение и характеристика гибридных форм пшеницы с окрашенным зерном
Е.В. Чуманова, Т.Т. Ефремова, К.В. Соболев, Е.А. Косяева 223

Разработка KASP маркеров для генов, вовлеченных в формирование адаптивной реакции у ели европейской
В.В. Шаршавикова, В.А. Волков, Д.С. Каржаев, Е.Д. Сафронычева, М.В. Тис, К.В. Чухланцева 224

Источники эффективных генов хозяйственно ценных признаков для маркер-ориентированной селекции мягкой яровой, озимой и многолетней пшеницы в условиях Западной Сибири
С.С. Шепелев, И.В. Потоцкая, А.С. Чурсин, В.Е. Пожерукова, А.Н. Айдаров, С.А. Ессе, А.М. Ковальчук, И.В. Безукладов, А.О. Вернер, А.О. Виноградова, А.С. Карелова, Р.Д. Сулейманов, В.П. Шаманин 225

Молекулярно-генетическая идентификация тетраплоидных форм озимой ржи (*Secale cereale* L.) по генам *Rfp* для использования в селекции
В.Е. Шимко, И.С. Гордей, О.М. Люсиков, В.С. Мандрусова, О.С. Матиевская, С.И. Гордей, Д.Ю. Артюх, Э.П. Урбан 226

Создание высокоструктурированных баз данных и знаний для задач моделирования, анализа, интерпретации на основе омиксных данных растений
А.Г. Шлихт, Н.В. Краморенко 227

Реконструкция генома и транскриптома полиплоидного картофеля *Solanum tuberosum* L.
Н.А. Шмаков, Д.А. Афонников 228

Влияние биопестицида Новохизоль на иммунитет мягкой пшеницы: лабораторные и полевые оценки
А.Б. Щербань, Е.С. Сколотнева, А.В. Федяева, Е.А. Орлова, С.В. Бурлакова, Н.И. Бойко, В.В. Фоменко 229

Улучшение качества зерна сорго посредством геномного редактирования и РНК-сайленсинга генов кафиринов
Л.А. Эльконин, Г.А. Геращенков, Н.В. Борисенко, С.Х. Сарсенова, Н.Ю. Селиванов, В.М. Панин 230

Филогения микогетеротрофного рода *Epirixanthes* (Polygalaceae, Fabales): уточнение числа видов и морфологическая эволюция
С.В. Юдина, M. Dančák, M. Hroneš, М.Д. Логачёва, М.С. Нуралиев 231

Анализ копийности повторяющихся последовательностей *Dasypyrum breviaristatum* в геномах родственных видов методом количественной ПЦР
А.И. Юркина, П.Ю. Крупин, Д.С. Ульянов, В.М. Соколова, М.Г. Дивашук 232

Развитие эффективного арбускулярного микоризного симбиоза: особенности подбора растения и гриба
А.П. Юрков, А.А. Крюков, Т.Р. Кудряшова, А.И. Горенкова, А.И. Ковальчук, А.И. Беляева 233

Agrobacterium tumefaciens GV3101-mediated *Fagopyrum esculentum* genome transformation and DFR, LFY genes editing
L.R. Abdulkina, D.O. Omelchenko, E.S. Glagoleva, L.V. Omelchenko, M.D. Logacheva 234

The using of speed breeding to obtain *Waxy* lines of bread wheat
M. Alkubesi, A.O. Blinkov, A.G. Chernook, M.G. Divashuk 235

Some features of using photomorphogenesis for soybeans (*Glycine max* L. Merr.) under accelerated vegetation conditions (speed breeding)
S.M. Avdeev, A.A. Kocheshkova, N.Y. Svistunova, P.Yu. Kroupin, A.V. Arkhipov, A.O. Blinkov, V.Yu. Kanunnikova, S.I. Romashkina, G.I. Karlov, M.G. Divashuk 236

Textural characteristics of wheat grain images from the ITMI population
D.R. Avzalov, E.G. Komyshev, D.A. Afonnikov 237

Using molecular genetic testing and field evaluation methods to develop new tomato breeding material with complex resistance to diseases
O.G. Babak, E.V. Drozd, K.K. Yatsevich, N.V. Anisimova, N.A. Martinovskaya, G.R. Rodríguez, M.P. Gómez, T.H. Ramos, E.B. González, Y.C. Herrera, A.V. Kilchevsky 238

Deciphering molecular mechanism underlying 10-stamen phenotype in *Capsella bursa-pastoris*
A.M. Barkovskaya, S.V. Yudina, A.V. Klepikova, M.D. Logacheva, A.A. Penin 239

Comparative transcriptome analysis of embryogenic and non-embryogenic callus of tartary buckwheat
M.A. Bashir, D.O. Omelchenko, A.A. Penin, N.I. Rumyantseva, M.D. Logacheva 240

Impact of genome-edited *PPD-1* promoter mutations on diurnal expression rhythms and heading time in *Triticum aestivum* L.
A.A. Berezhnaya, A.A. Kiseleva, E.A. Salina 241

Creation of transgenic tobacco plants with two target genes by hybridization
Z.A. Berezhneva, B.R. Kuluev 242

Gene coexpression for stimulating regeneration in *Medicago truncatula*
A.V. Brynchikova, V.Y. Simonova, E.A. Potsenkovskaia, V.E. Tvorogova, L.A. Lutova 243

The use of digital phenotyping technologies to study the effects of beneficial microorganisms in plant breeding, genetics and biotechnology
S.A. Bursakov, P.Yu. Kroupin, D.Yu. Litvinov, M.S. Bazhenov, A.A. Kocheshkova, P.N. Kharchenko, G.I. Karlov, M.G. Divashuk 244

Advancing plant telomere-to-telomere genome research with PlanT2T
H. Chao, Z. Wang, M. Chen 245

Development of speed breeding protocols for cereal crops
A.G. Chernook, A.O. Blinkov, D.O. Bizyakina, A.G. Marenkova, A.A. Lappo, V.M. Nagamova, A.S. Zelenina, V.A. Korobkova, N.Yu. Svistunova, S. Radzeniece, A.A. Kocheshkova, M.G. Divashuk 246

Guar genetic transformation: an example of how to overcome recalcitrance in legumes
L.M. Criollo, E. Potokina 247

The pyCOGNAT approach for comparative analysis of genomes of chloroplasts and plastids
D.V. Dibrova 248

Read data improvement approaches for genome assembly of non-model plant species
A. Emirsaliev, D. Afonnikov, I. Mitrofanova, E. Salina 249

Lipoxygenase system under phytohormones and hypoxia in dicotyledonous plants, varietal and interspecific differences
A.N. Ershova, N.V. Kolesnik 250

Analysis of recent polyploid gene evolution on the example of *Capsella bursa-pastoris* (Shepherd's Purse)
D.R. Ganaeva, A.M. Kasianova, A.V. Klepikova, M.D. Logacheva, A.A. Penin 251

Selection of wheat-emmer lines with naked colored grains using molecular markers
E.I. Gordeeva, O.Yu. Shoeva 252

Comparative analysis of the evolutionary dynamics of alternative splicing in *Arabidopsis thaliana* and *Solanum lycopersicum*
A.M. Kasianova, A.V. Klepikova, M.D. Logacheva, A.A. Penin 253

MASRUSPLANTS v3.0: an updated web resource of DNA markers for marker-assisted selection of rust resistance genes in cereal crops
V.N. Kelbin, E.S. Skolotneva, E.A. Salina 254

Identification of non-standard effects in phenotypic analysis
V. Kharchenko 255

Genomic technologies for generating abiotic stress tolerance grapevine (*Vitis vinifera* L.) plants
P. Khvatkov, E. Vodiasova, V. Timerbaev, G. Maletich, I. Gavrilenko, A. Sinchenko, S. Chelombit, A. Pushin, S. Dolgov 256

The selection of target genes for detection of plant impurities in feeds
N.A. Kirsanova, A.N. Bogomazova, A.S. Pirsikov 257

Molecular mechanisms regulating protein and gluten accumulation in grain of spring *vs* winter wheat
A.A. Kiseleva, A.V. Fedyaeva, A.I. Stasyuk, I.N. Leonova, E.A. Salina 258

iTraVA: transcriptome map of *Arabidopsis thaliana* alternative isoforms
A.V. Klepikova, A.M. Kasianova, T.A. Isaeva, M.D. Logacheva, A.A. Penin 259

Evaluation of color and texture characteristics of cereal grains by SeedCounter application
E.G. Komyshev, M.A. Genaev, D.A. Afonnikov 260

Systemic control of legume-rhizobia symbiosis: functional studies of key regulators using overexpression and CRISPR/Cas9-mediated gene editing approaches
M.A. Lebedeva, D.N. Rubtsova, V.A. Petrenko, L.A. Lutova 261

Assessment of genetic divergence of *Brassica juncea* breeding lines for yield traits under rainfed conditions
M.A. Malik, Z. Akram, T. Hussain, G. Shabbir, G. Qadir 262

Experimental evolution reveals temperature-dependent phenotypic and genomic changes in *Verticillium alfalfae*, the causative agent of alfalfa Wilt
A.R. Meshcherov, A.S. Baik, S.V. Boldyrev, L. Gentzbittel, C. Ben 263

Increasing the mobility of Cas9 transcripts, delivered by viral vectors
E.V. Mikhaylova, L.R. Khakimova, E.A. Khusnutdinov, M.Y. Shein, M.P. Terekhov 264

In vitro studying the photoperiod effect on morphophysiological and biochemical parameters of *Cotinus coggygria* Scop. and cherry rootstock VSL-2 microshoots
I.V. Mogilevskaya 265

BZIP transcription factors as negative regulators of secondary cell wall formation in plant fibers
N. Mokshina, O. Gorshkov, A. Lem, T. Gorshkova 266

Processing of raw RNA-seq data of *Chlamydomonas reinhardtii* cells using the newly developed PipeSeq program
A.M. Nerezenko, P.A. Virolainen, E.M. Chekunova 267

A hairy root path for genome editing in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum*)
D.O. Omelchenko, L.R. Abdulkina, E.S. Glagoleva, L.V. Omelchenko, M.D. Logacheva 268

Envirotyping of spruce (*Picea abies*) geographical provenances in Russia
N.A. Pavlov, J.P. Rojas-Bustos, E.K. Potokina, R.B. Jana 269

Possible example of locus heterogeneity in soybean
R.N. Perfil`ev, E.A. Salina 270

Arabidopsis thaliana native and domesticated GAG protein interactions network
A.V. Polkhovskiy, M.A. Yanushkevich, I.V. Kirov 271

The search of somatic embryogenesis regulators in *Medicago truncatula* among the MtNF-Y family
E.A. Potsenkovskaia, V.E. Tvorogova, L.A. Lutova 272

Inferring genetic basis of short-style homostyly and self-compatibility in a KK8 mutant of common buckwheat
S.R. Prokopchuk, M.D. Logacheva, M.I. Schelkunov, A.A. Penin, N.N. Fesenko, I.N. Fesenko 273

A pan-transcriptome scale study of long non-coding RNA diversity in maize
A.Y. Pronozin, N.A. Shmakov, D.A. Afonnikov 274

The induction of mice lung tumors by HeLa cells and regression by human papillomavirus type HPV16 E2 protein
N.I. Rekoslavskaya, A.V. Tretyakova, J.V. Nurminskaya, A.A. Chemezova 275

Fusarium wilt of flax: multi-omics elucidation of host-specific virulence and epigenetically regulated resistance
M. Samsonova, V. Stanin, M. Ilina, T. Rozhmina 276

Regulatory plant 14-3-3 proteins markedly differ in stability and provide insights into the plant stress resistance and molecular evolution
I.A. Sedlov, N.N. Sluchanko 277

In vitro CRISPR-Cas9 cleavage assay for targeted editing of *TGMS5* gene in wheat
A. Shafi, E. Potokina 278

Determining molecular functions of the *Ant27* locus that controls proanthocyanidin synthesis in barley grain
O.Y. Shoeva, M.O. Orbant, I.V. Totsky, R. Li, A.A. Denisov, N.A. Shmakov, A.V. Doroshkov, G.V. Vasiliev, D. Stuart, S. Zakhrabekova, M. Hansson 279

Telegram-bot for the furanocoumarin database in Apiaceae
V.Yu. Shtratnikova, E.I. Ivanov 280

Exploration of genetic architecture of major agronomical traits in *Vicia sativa* collection via Genome-Wide Association Studies (GWAS)
L.A. Sidorov, A. Zamalutdinov, S. Boldyrev, F. Maalouf, D. Rubiales, E. Barilli, R. El Amil, R. Mentag, L. Gentzbittel, C. Ben 281

Potential of using the RUBY reporter system in the transformation of *Pisum sativum* and optimization of the selection of transgenic calli
V.Y. Simonova, E.A. Potsenkovskaia, V.E. Tvorogova, L.A. Lutova 282

Genomic determinants of host specificity in *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini*
V.A. Stanin, A.A. Kanapin, A.A. Samsonova, M.G. Samsonova 283

Biotechnology of creating violet-colored forms of triticale and their characteristics
P.I. Stepochkin, N.V. Petrash, E.V. Morozova 284

Flax amaranthin-like protein with aerolysin domain: molecular modeling and docking
N.G. Syrchina, N.V. Petrova 285

Regeneration and transformation of plants from the Fabaceae family
V.E. Tvorogova, E.A. Potsenkovskaia, V.Y. Simonova, K.V. Smirnov, E.P. Efremova, Z.S. Konstantinov, A.V. Brynchikova, A.M. Artemiuk, D.B. Pavlova, D.V. Yakovleva, T.V. Dubenko, A.A. Vanina, L.A. Lutova 286

Features of functioning of multigenic protein families under different stresses in some fruit crops
E. Vodiasova, I. Gavrilenko, V. Uppe, V. Tsyupka, P. Khvatkov 287

Computational prediction of interactions of long non-coding RNAs and microRNAs in maize
J.T. Yan, A. Pronozin, D. Afonnikov 288

Identifying trichomes on digital images of soy leaves
X.Y. Zhang, M.T. Menkov, I.V. Rozanova, D.A. Afonnikov 289

Use of *in vitro* culture to obtain new source material and selection of stress-resistant interspecific *Populus* hybrids
O.O. Zholobova, I.V. Mogilevskaya, T.V. Tereshchenko 290

Transcriptional activity of genes involved in the metabolism of abscisic acid in *Quercus robur* L. under drought conditions
P.A. Zybinskaya, A.V. Tretyakova, P.A. Krylov 291

Авторский указатель / Author index 292

Научное издание

ГЕНЕТИКА, ГЕНОМИКА, БИОИНФОРМАТИКА И БИОТЕХНОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

8-я Международная научная конференция

Тезисы докладов

Публикуется в авторской редакции

PLANT GENETICS, GENOMICS, BIOINFORMATICS AND BIOTECHNOLOGY

8th International Scientific Conference

Abstracts

Printed without editing

Выпуск подготовлен информационно-издательским отделом ИЦиГ СО РАН

Подписано к печати 16.06.2025. Сетевое издание

Федеральный исследовательский центр
«Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук»
630090, Новосибирск, проспект Академика Лаврентьева, 10