



МАТЕРИАЛЫ  
IV МЕЖДУНАРОДНОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ  
КОНФЕРЕНЦИИ

ГЕНОМИКА И  
СОВРЕМЕННЫЕ  
БИОТЕХНОЛОГИИ В  
РАЗМНОЖЕНИИ,  
СЕЛЕКЦИИ  
И СОХРАНЕНИИ  
РАСТЕНИЙ  
(*GENBIO2024*)

7–11 ОКТЯБРЯ  
МОСКВА





Министерство науки и высшего образования РФ



*Russian Academy of Sciences*

Российская академия наук



ФГБУН «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН»



ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии»



Межрегиональная общественная организация Вавиловское общество генетиков и селекционеров



ФГБУН «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН»

## **Материалы**

### **IV Международной научно-практической конференции «Геномика и современные биотехнологии в размножении, селекции и сохранении растений»**

GenBio2024

Москва, 7–11 октября 2024

Москва  
2024



Ministry of Science and Higher Education of the Russian  
Federation



*Russian Academy of Sciences*

The Russian Academy of Sciences



FSFIS «The Labor Red Banner Order Nikita Botanical Gardens –  
National Scientific Centre of the RAS»



All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology



Interregional Public Organisation Vavilov Society of Geneticists  
and Breeders



Institute of Cytology and Genetics,  
Siberian Branch of Russian Academy of Sciences

Proceedings

of the Fourth International scientific and practical conference  
"Genomics and modern biotechnologies in plant propagation, breeding and preservation"

GenBio2024

Yalta, 7–11 October 2024

Moscow  
2024

УДК 574(063)  
ББК 28.08.3я4  
М 67

**ГенБио2024:** Материалы IV Международной научно-практической конференции «Геномика и современные биотехнологии в размножении, селекции и сохранении растений - ФГБУН «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад - Национальный научный центр РАН», г. Москва, Россия, 7–11 октября 2024 г. – Москва, 2024. – 183 с.

ISBN 978-5-91291-071-5; DOI 10.18699/GenBio2024-Abstracts

Сборник включает материалы докладов ученых России и других стран, раскрывающих различные аспекты современной геномики, биотехнологии, селекции, размножения и сохранения растений. В публикациях авторов освещаются результаты научных исследований в области геномных и протеомных исследований, молекулярно-генетических и биотехнологических аспектов изучения дикорастущих видов растений. В ряде работ детально описаны теоретические и прикладные аспекты клеточной инженерии и клонального микроразмножения растений. Кроме этого, в сборнике рассмотрены особенности создания коллекций растений *in vitro*, криоконсервация, методы сохранения генофонда и селекции плодовых, ягодных, декоративных культур и других растений.

УДК 574(063)  
ББК 28.08.3я4

**GenBio2024:** Proceedings of the Third International scientific and practical conference "Genomics and modern biotechnologies in plant propagation, breeding and preservation, Moscow, 7–11 October 2022. – Yalta, 2022. – 183 p.

The book includes materials from the reports of scientists from Russia and other countries revealing various aspects of modern genomics, biotechnology, breeding, reproduction and conservation of plants. The authors' publications highlight the results of scientific research in the field of genomic and proteomic studies, molecular genetic and biotechnological aspects of the study of wild plant species. A number of works describe in detail the theoretical and applied aspects of cell engineering and clonal micropropagation of plants. In addition, the collection discusses the features of creating *in vitro* plant collections, cryopreservation, methods for preserving the gene pool and breeding fruit, berry, ornamental crops and other plants.

ISBN 978-5-91291-071-5

© ФГБУН «НБС-ННЦ», 2024

**ОРГКОМИТЕТ КОНФЕРЕНЦИИ****Сопредседатели:**

**Плугатарь Юрий Владимирович**, чл.-корр. РАН, доктор с.-х. наук, директор ФГБУН «НБС-ННЦ»,

**Водясова Екатерина Александровна**, канд. биол. наук, руководитель Курчатовского геномного центра ФГБУН «НБС-ННЦ»

**Секретарь конференции:**

**Челебиева Элина Сергеевна**, к. б. н., с.н.с. КГЦ-НБС-ННЦ, ФГБУН «НБС-ННЦ», Ялта

**Цюпка Валентина Анатольевна**, к. б. н., зав. лаб. геномики растений и биоинформатики, вед.н.с. КГЦ-НБС-ННЦ ФГБУН «НБС-ННЦ», Ялта

**Программный комитет:**

Professor Dr. Hongwei Hou, Institute of Hydrobiology Chinese Academy of Sciences, China

Professor Dr. Kanchit Thammasiri, Department of Gardening and Horticulture, Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, China

**Партоев Курбонали**, доктор с.-х. наук, профессор, Заведующий лабораторией генетики и селекции растений, Института ботаники, физиологии и генетики растений НАН, Таджикистан

Vice-Chancellor Dr. Satbir Singh Gosal, Punjab Agricultural University, Ludhiana, Punjab, India

Vice-Chancellor Dr. Anand Kumar Singh, Chandra Shekhar Azad University of Agriculture & Technology, Kanpur, Uttar Pradesh, India

**Кильчевский Александр Владимирович**, Заместитель Председателя Президиума НАН Беларуси, академик НАН Беларуси, Беларусь

**Карлов Геннадий Ильич**, академик РАН, Директор ФГБНУ ВНИИСБ, Россия

**Кочетов Алексей Владимирович**, академик РАН, Директор ФИЦ ИЦиГ СО РАН, Россия

**Долгов Сергей Владимирович**, доктор биол. наук, гл.н.с. ФГБУН «НБС-ННЦ», Россия

**Шевчук Оксана Михайловна**, доктор биол. наук, зам. директора по науке ФГБУН «НБС-ННЦ», Россия

**Соловченко Алексей Евгеньевич**, доктор биол. наук, профессор, МГУ, Россия

**Салина Елена Артемовна**, доктор биол. наук, руководитель Курчатовского геномного центра ФИЦ ИЦиГ СО РАН, Россия

**Тальянский Михаил Эммануилович**, доктор биол. наук, профессор, ФГБУН ИБХ РАН, Россия

**Дивашук Михаил Георгиевич**, канд. биол. наук, руководитель Курчатовского геномного центра ФГБНУ ВНИИСБ, Россия

**Члены организационного комитета:**

**П. А. Хватков**, к.б.н., в.н.с.

**Э. С. Челебиева**, к.б.н., с.н.с.

**И. В. Гавриленко**, м.н.с.

**А. В. Синченко**, м.н.с.

**В. А. Цюпка**, к.б.н., в.н.с.

**Г. К. Малетич**, м.н.с.

**Э. С. Сеитмамутова**, м.н.с.

**В. А. Уппе**, м.н.с.

## СОДЕРЖАНИЕ

Hou Hong-Wei, Li Gao-Jie, Sun Zuo-Liang, ZHAO Xu-Yao METABOLIC PLASTICITY OF AQUATIC PLANT PROVIDE NEW MODELS FOR SYNTHETIC BIOLOGY	13
Thammasiri K. CONSERVATION OF PLANT GENETIC RESOURCES USING CRYOPRESERVATION	14
Абдуламонов А. К., Абдуламонов К., Неккадамова Ф. АНАЛИЗ ПРИЗНАКОВ ПРОДУКТИВНОСТИ СОРТОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ РАЗЛИЧНОГО ЭКОЛОГО-ГЕОГРАФИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В ГОРНОМ БАДАХШАНЕ	15
Антипин М. И. ПОИСК ДНК-МАРКЕРОВ, ПОДХОДЯЩИХ ДЛЯ ДНК-БАРКОДИНГА ПЕРЕДНЕАЗИАТСКИХ ВИДОВ РОДА GLADIOLUS L.	17
Апанасова Н. В., Юдакова О. И. ВОСЬМАЯ ХРОМОСОМА, КАК ВОЗМОЖНОЕ МЕСТО ЛОКАЛИЗАЦИИ ГЕНОВ ПАРТЕНОГЕНЕЗА У КУКУРУЗЫ	19
Асмагбекова Ф.Я., Исмоилов М.Т., Мирзорахимзода А.К. БИОРАЗНООБРАЗИЕ МАЛИНЫ В УСЛОВИЯХ ЗАПАДНОГО ПАМИРА	21
Батукаев А., Дудаева А., Батукаев А. ОЗДОРОВЛЕНИЕ ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА ВИНОГРАДА ОТ ЛАТЕНТНОЙ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В УСЛОВИЯХ IN VIVO	23
Батукаев А. А., Асхабов Б. Х. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНЫХ СРОКОВ ВВЕДЕНИЯ ЗЕМЛЯНИКИ САДОВОЙ В КУЛЬТУРУ IN VITRO	25
Бережная А. А., Киселева А. А., Салина Е. А. ВЛИЯНИЕ МУТАЦИЙ В ПРОМОТОРЕ ГЕНОВ RPD-1, ПОЛУЧЕННЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГЕНОМНОГО РЕДАКТИРОВАНИЯ, НА СУТОЧНЫЙ ПАТТЕРН ЭКСПРЕССИИ ЭТИХ ГЕНОВ И НА ВРЕМЯ КОЛОШЕНИЯ У T. AESTIVUM L.	27
Битаршивили С. В., Волкова П. Ю. МЕТАБОЛОМНЫЙ АНАЛИЗ РАСТЕНИЙ ACHILLEA MILLEFOLIUM, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ ЗОНЕ ОТЧУЖДЕНИЯ	29
Бохан А. И., Савин П. С., Мясникова С. Б. БИОКОЛЛЕКЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ В КУЛЬТУРЕ IN VITRO	31
Бохан А. И., Савин П. С. КЛЕТОЧНАЯ КУЛЬТУРА КОПЕЕЧНИКА АЛЬПИЙСКОГО (HEDYSARUM ALPINUM L.) В УСЛОВИЯХ IN VITRO	33
Буланов А. Н., Андреева Е. А., Зыкин П. А., Цветкова Н. В., Войлоков А. В. ВЫЯВЛЕНИЕ РЕГУЛЯТОРНЫХ ГЕНОВ ДЛЯ МАРКЁР-ОПОСРЕДОВАННОЙ СЕЛЕКЦИИ РЖИ SECALE CEREALE L. НА ВЫСОКОЕ СОДЕРЖАНИЕ АНТОЦИАНОВ В ЗЕРНОВКЕ	35
Бычкова В. В., Кибальник О. П., Эльконин Л. А. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КЛАССИЧЕСКИХ И СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ В СЕЛЕКЦИИ ГИБРИДОВ СОРГО НА ОСНОВЕ РАЗНЫХ ТИПОВ ЦМС	37
Воронина М. С., Игнатова Д. Ф., Рамазанов Р. Б. НАПИТКИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО НАЗНАЧЕНИЯ НА ОСНОВЕ ЗООГЛЕИ	39
Вюртц Т. С., Домблидес Е. А. ПОЛУЧЕНИЕ УДВОЕННЫХ ГАПЛОИДОВ ПАСТЕРНАКА В КУЛЬТУРЕ МИКРОСПОР IN VITRO	41
Гавриленко И., Малетич Г., Челомбит С., Водясова Е., Тимербаев В., Синченко А., Долгов С., Хватков П. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РОЛЬ WRKY (ТФ) В ОТВЕТЕ РАСТЕНИЙ НА АБИОТИЧЕСКИЙ СТРЕСС	43
Ганчева М. С., Лосев М.Р., Мыскова А. В., Соколов М. Ф., Додуева И. Е., Лебедева М. А., Лутова Л. А. ПЕПТИДНЫЕ ГОРМОНЫ СЛЕ В РЕГУЛЯЦИИ КЛУБНЕОБРАЗОВАНИЯ КАРТОФЕЛЯ	45
Гвоздикова А. М., Поливанова О. Б., Федорова Д. Г. ВЛИЯНИЕ НАНО-ФЕРРИТА ЦИНКА НА ИНДУКЦИЮ КАЛЛУСА IN VITRO	47
Голубев А. М., Селиванов Н. Ю., Куликов А. А., Вдовенко В. С., Алёшина Н. А. ИССЛЕДОВАНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ПЕРВОГО КОМПОНЕНТА ЗИМОСТОЙКОСТИ РАСТЕНИЙ АБРИКОСА	49
Гусейнова Б. М., Абдулгамидов М. Д. КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА ПЕРСПЕКТИВНОГО СОРТОВОГО ФОНДА ЧЕРЕШНИ ДАГЕСТАНСКОЙ СЕЛЕКЦИОННОЙ ОПЫТНОЙ СТАНЦИИ ПЛОДОВЫХ КУЛЬТУР	51



<i>Гуторова О. В., Морозова В. С.</i> ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ РАЗВИТИЯ АНДРОГЕННЫХ ГАПЛОИДОВ У ЛИНИИ КУКУРУЗЫ ЗМС-П	53
<i>Гуторова О. В., Коптилова А. А.</i> ОСОБЕННОСТИ ПЫЛЬЦЫ ЛИНИЙ КУКУРУЗЫ ГАПЛОИДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	55
<i>Данцюк Н. В., Чубчикова И. Н., Челебиева Э. С., Дробецкая И. В., Мансурова И. М.</i> ХАРАКТЕРИСТИКА НОВОГО ШМАММА ЗЕЛЕННОЙ МИКРОВОДОРОСЛИ ИРАН D9A3 ИЗ КОЛЛЕКЦИИ ЖИВЫХ КУЛЬТУР КАРОТИНОГЕННЫХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ ИНБЮМ (IBSSCA)	57
<i>Долгих В. А., Землянская Е. В., Левицкий В. Г.</i> РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ КЛЮЧЕВЫХ ФИТОГОРМОНОВ У <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> L.: ПОЛНОГЕНОМНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИС-ЭЛЕМЕНТОВ	59
<i>Драгавцева И. А., Драгавцев В. А., Клюкина А. В.</i> ТЕОРИЯ ЭКОЛОГО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО УСТРОЙСТВА ПРИЗНАКОВ ПРОДУКТИВНОСТИ МНОГОЛЕТНИХ ПЛОДОВЫХ КУЛЬТУР И НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ СЕЛЕКЦИИ	61
<i>Захарова Е. В., Ханина Т. П., Голиванов Я. Ю.</i> ИЗУЧЕНИЕ КАСПАЗО-3-ПОДОБНОЙ ПРОТЕАЗЫ (DEVDАЗЫ) КАК ДЕТЕРМИНАНТЫ S-РНКАЗНОЙ САМОНЕСОВМЕСТИМОСТИ У <i>SOLANUM PENNELLII</i>	63
<i>Иванова Н. Н., Корзина Н. В., Гребенникова О. А., Лесникова-Седошенко Н. П., Жданова И. В., Челомбит С. В.</i> ДЛИТЕЛЬНОЕ СОХРАНЕНИЕ РАЗЛИЧНЫХ КУЛЬТУР В УСЛОВИЯХ ГЕНОБАНКА <i>IN VITRO</i>	65
<i>Кавеленова Л. М., Роголева Н. О., Розно С. А., Помогайбин А. В., Янков Н. В.</i> АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ФОРМИРОВАНИЯ БИОРЕСУРСНЫХ КОЛЛЕКЦИЙ В БОТАНИЧЕСКИХ САДАХ ВУЗОВ (ИЗ ОПЫТА РАБОТЫ БОТАНИЧЕСКОГО САДА САМАРСКОГО УНИВЕРСИТЕТА)	67
<i>Криницына А. А., Чурикова О. А.</i> ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ ДЛЯ ПАСПОРТИЗАЦИИ КОЛЛЕКЦИИ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ НА ПРИМЕРЕ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ Р. <i>SYRINGA</i> И <i>RHODODENDRON</i> L.	69
<i>Криницына А. А., Чурикова О. А., Антипин М. И., Омельченко Д. О., Сперанская А. С.</i> ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ <i>ALLIUM ATROSANGUINEUM</i> SHRENK, ПРОИЗРАСТАЮЩЕГО В УСЛОВИЯХ ВЫСОКОГОРИЙ ТЯНЬ-ШАНЯ НА ОСНОВАНИИ ISSR МАРКЕРОВ И СТРУКТУРЫ ЛИСТА	71
<i>Кручинина Ю. В.</i> ИЗУЧЕНИЕ АРХИТЕКТониКИ КОЛОСА ПШЕНИЦ И ЕГО КОМПЬЮТЕРНОЕ ФЕНОТИПИРОВАНИЕ	73
<i>Кулян Р. В., Рьндин А. В., Слепченко Н. А.</i> БИОРЕСУРСНЫЕ КОЛЛЕКЦИИ ФИЦ СНЦ РАН: СОХРАНЕНИЕ, ИЗУЧЕНИЕ, ИСПОЛЬЗОВАНИЕ	75
<i>Лосев М., Ганчева М.</i> РОЛЬ ГЕНОВ <i>CLE</i> , <i>VAM</i> И <i>TDR</i> У КАРТОФЕЛЯ ( <i>SOLANUM TUBEROSUM</i> L.)	77
<i>Мавлютова Л. И., Эльконин Л. А., Колесова А. Ю., Беляева Е. В., Геращенко Г. А.</i> ИНДУКЦИЯ И ВЫЯВЛЕНИЕ НЕРЕДУЦИРОВАННЫХ ЖЕНСКИХ И МУЖСКИХ ГАМЕТОФИТОВ У КУКУРУЗЫ И СОРГО С ПОМОЩЬЮ ГЕНОМНОГО РЕДАКТИРОВАНИЯ И РАЗНОПЛОИДНЫХ СКРЕЩИВАНИЙ (2n×4n)	79
<i>Малетич Г., Пушин А., Долгов С. и Хватков П.</i> АГРОБАКТЕРИАЛЬНАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ ВИНОГРАДА ПОСРЕДСТВОМ ОРГАНОГЕНЕЗА	81
<i>Мартынова Е. У., Замалутдинов А. В., Башк А. С., Черняева Е. А., Иванова И. Ю., Бен С., Гентцбиттель Л.</i> ГЕНОТИПИРОВАНИЕ С ПОМОЩЬЮ СЕКВЕНИРОВАНИЯ (GBS) КАК ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ РОССИЙСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ ХМЕЛЯ ОБЫКНОВЕННОГО ( <i>HUMULUS LUPULUS</i> )	83
<i>Мацькив А. О., Тутберидзе Ц. В., Кондратенко Е. И., Симонян Т. А., Шуркина Е. С., Цатурян Г. А., Конинская Н. Г., Шхалахова Р. М.</i> ЭФФЕКТИВНОСТЬ SCOT МАРКЕРОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА <i>ACTINIDIA</i> В КОЛЛЕКЦИИ ФИЦ СНЦ РАН	85
<i>Мегер Я. В., Сыровец А. А., Лантушенко А. О., Шевчук О. М.</i> СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ НАИБОЛЕЕ РАСПРОСТРАНЕННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ КРЫМСКИХ МОЖЖЕВЕЛЬНИКОВ ВИДОВ <i>J. DELTOIDES</i> И <i>J. EXCELSA</i>	87

<i>Меньков М. Т., Лепилова Е. А., Розанова И. В., Сеферова И. В., Бойко А. П., Димитриева А. А., Хлесткина Е. К.</i>	
ПОИСК ЛОКУСОВ ХОЗЯЙСТВЕННО ЦЕННЫХ ПРИЗНАКОВ СОИ С ПОМОЩЬЮ ПОЛНОГЕНОМНОГО АНАЛИЗА АССОЦИАЦИЙ В УСЛОВИЯХ ВЛАЖНЫХ СУБТРОПИКОВ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ	89
<i>Меньков М. Т., Журавлев И. Ю., Добаркина Н. А., Евлаш А. Я., Маркова Е. Н., Шитилина Л. Ю., Розанов А. С.</i>	
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИДОВОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ ЕЖЕВИКИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БАРКОДИРОВАНИЯ НА ТЕРРИТОРИИ ЧЕРНОМОРСКОГО ПОБЕРЕЖЬЯ	91
<i>Месяц Н. В., Смыков А. В.</i>	
МОРОЗОСТОЙКОСТЬ СОРТОВ И ФОРМ НЕКТАРИНА СЕЛЕКЦИИ НИКИТСКОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА	93
<i>Минейкина А. И., Домблides Е. А., Домблides А. С., Бондарева Л. Л.</i>	
ПРИМЕНЕНИЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ УСКОРЕННОЙ СЕЛЕКЦИИ КАПУСТЫ БЕЛОКОЧАННОЙ	95
<i>Мирошниченко Д. Н., Тимербаев В. Р., Киров И. В., Клементьева А. А., Сидорова Т. Н., Пушин А. С., Долгов С. В.</i>	
ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ГЕНОВ КОДИРУЮЩИХ ФАКТОРЫ ИНИЦИАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ eIF4E С ПОМОЩЬЮ РНК-ИНТЕРФЕРЕНЦИИ И ГЕНОМНОГО РЕДАКТИРОВАНИЯ КАК СПОСОБ ДОСТИЖЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ УСТОЙЧИВОСТИ КАРТОФЕЛЯ К ВИРУСУ PVY	97
<i>Моисеева Е. А., Степанова А. Ю., Карташов А. В., Злобин И. Е.</i>	
КАЛЛУСОГЕНЕЗ И РЕГЕНЕРАЦИИ В КУЛЬТУРЕ <i>IN VITRO</i> PINUS SYLVESTRIS	99
<i>Муренец Л. Ю., Пушин А. С., Тимербаев В. Р., Хмельницкая Т. И., Грибков Э. Е., Андреев Н. С., Долгов С. В.</i>	
ЗАМАЛЧИВАНИЕ ГЕНОВ ФАКТОРОВ ИНИЦИАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ eIF(iso)4G И eIF(iso)4E КАК СПОСОБ ПОВЫШЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ КОСТОЧКОВЫХ КУЛЬТУР К ВИРУСУ ОСПЫ СЛИВЫ НА ПРИМЕРЕ КЛОНОВОГО ПОДВОЯ 146-2	101
<i>Настинова Г. Э.</i>	
ПОЛУЧЕНИЕ РЕГЕНЕРАНТОВ РЕДКОГО ДЛЯ ЮГА РОССИИ ВИДА POPULUS LAURIFOLIA LEDEV. В КУЛЬТУРЕ <i>IN VITRO</i>	103
<i>Охлопкова Ж.М., Разгонова М.П., Кучарова Е.В., Егоров Ю.А., Заболоцкая А.П.</i>	
DRACOSERNALUM JACUTENSE PESCHKOVA: ИЗУЧЕНИЕ И ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ <i>IN VITRO</i> РЕДКОГО ВИДА РАСТЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ САХА (ЯКУТИЯ)	105
<i>Павлова О. А., Сорокопудов В. Н.</i>	
КОЛЛЕКЦИЯ ЖИВЫХ РАСТЕНИЙ ЗЕМЛЯНИКИ САДОВОЙ НА СВЕРДЛОВСКОЙ ССС	107
<i>Пак М. Э., Орешкова Н. В., Горячкина О. В., Третьякова И. Н.</i>	
СЕЛЕКЦИЯ И ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ЭМБРИОННЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ LARIX SIBIRICA	109
<i>Партоев К., Сатторов Б. Н., Сафармади М., Сайдалиев Н.</i>	
О СЕЛЕКЦИОННЫХ ДОСТИЖЕНИЯХ У НЕКОТОРЫХ ПОЛЕВЫХ КУЛЬТУР В УСЛОВИЯХ ТАДЖИКИСТАНА	111
<i>Перфильев Р. Н., Потапов Д. А., Максименко К. В., Кирюхин С. В., Гуринович С. О., Панарина В. И., Полюдина Р. И., Салина Е. А.</i>	
ПОИСК ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬЮ ЦВЕТЕНИЯ И СОЗРЕВАНИЯ СОИ В УСЛОВИЯХ ЦЕНТРАЛЬНОЙ РОССИИ И ЗАПАДНОЙ СИБИРИ	113
<i>Попова Е. А., Пунгин А. В.</i>	
ВЛИЯНИЕ АМИНОКИСЛОТ НА СОДЕРЖАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР NYSSOPUS OFFICINALIS L.	115
<i>Празян А. А., Подлуцкий М. С., Бондаренко Е. В., Волкова П. Ю.</i>	
ПОИСК ФИТОГОРМОНАЛЬНОГО ОТВЕТА В ТРАНСКРИПТОМЕ ЯЧМЕНЯ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ РАЗЛИЧНЫМИ ТИПАМИ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ	117
<i>Пузырнова В. Г., Дорошенко Н. П.</i>	
ИССЛЕДОВАНИЯ ВСЕРОССИЙСКОГО НИИ ВИНОГРАДАРСТВА И ВИНОДЕЛИЯ ИМ. Я.И. ПОТАПЕНКО ПО СОВЕРШЕНСТВОВАНИЮ МЕТОДОВ СОДЕРЖАНИЯ ГЕНОФОНДА ВИНОГРАДА В КОЛЛЕКЦИИ <i>IN VITRO</i>	119
<i>Дорошенко Н. П., Пузырнова В. Г.</i>	
ФАКТОРЫ И ПАРАМЕТРЫ ДОЛГОСРОЧНОГО ХРАНЕНИЯ БИОРЕСУРСНОЙ КОЛЛЕКЦИИ ВИНОГРАДА	121
<i>Раева-Богословская Е. Н.</i>	
ОСОБЕННОСТИ РИЗОГЕНЕЗА ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА AMELANCHIER MEDIK. В КУЛЬТУРЕ <i>IN VITRO</i> .	123
<i>Репкина Н., Казнина Н.</i>	
ВЛИЯНИЕ ИЗБЫТКА ЦИНКА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ БЕЛКОВ ТРАНСПОРТЕРОВ В ЛИСТЬЯХ SINAPIS ALBA L И BRASSICA JUNCEA L. (CZERN)	125

<i>Реут А. А.</i>	
ИТОГИ ИЗУЧЕНИЯ БИОРЕСУРСНОЙ КОЛЛЕКЦИИ ПИОНОВ ЮЖНО-УРАЛЬСКОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА-ИНСТИТУТА УФИЦ РАН	127
<i>Саплева Н. М., Корзин В. В., Горина В. М.</i>	
МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ УРОЖАЙНОСТИ АБРИКОСА НА ПРИМЕРЕ СОРТА АЛЬДЕБАР	129
<i>Сеитмаммутова Э.С., Хватков П.А., Тимербаев В.Р., Жданова И.В., Долгов С.В.</i>	
РАЗРАБОТКА ИННОВАЦИОННОЙ ТЕХНОЛОГИИ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ СОРТИМЕНТА КОСТОЧКОВЫХ КУЛЬТУР	131
<i>Селиванова М. Н., Селиванов Н. Ю., Эльконин Л. А.</i>	
ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИОННЫХ ДЕТЕРГЕНТОВ ДЛЯ ЭКСТРАКЦИИ БЕЛКОВ МУКИ СЕМЯН МУТАНТОВ СОРГО, НЕСУЩИХ ГЕНЕТИЧЕСКУЮ КОНСТРУКЦИЮ ДЛЯ РНК-САЙЛЕНСИНГА ГЕНА ГАММА-КАФИРИНА	133
<i>Слепченко К. В., Рындин А. В.</i>	
БИОРЕСУРСНАЯ КОЛЛЕКЦИЯ РОДА IRIS ФИЦ СНЦ РАН	135
<i>Соколов М. Ф., Ганчева М. С., Лутова Л. А.</i>	
ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА LBD2-6 В ОТВЕТЕ НА НАЛИЧИЕ АЗОТА И ВОДЫ У КАРТОФЕЛЯ	137
<i>Сорокопудов В. Н., Сорокопудова О. А.</i>	
НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ЯГОДНЫХ КУЛЬТУР В БИОРЕСУРСНОЙ КОЛЛЕКЦИИ	139
<i>Сорокопудов В. Н., Быструшкин А. Г.</i>	
SAMBUCUS NIGRA L. – НОВАЯ КУЛЬТУРА ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ В РОССИИ	141
<i>Спотарь Г. Ю., Спотарь Е. Н., Мироненко А. А., Коновалова Н. В., Лиховской В. В.</i>	
ПАСПОРТИЗАЦИЯ АМПЕЛОГРАФИЧЕСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ «МАГАРАЧ» И ВНЕДРЕНИЕ ГЕНОМНЫХ ПОДХОДОВ В СЕЛЕКЦИЮ ВИНОГРАДА	143
<i>Степанова Н. В., Жилкина Т. А., Каминская А. М., Смоликова Г. Н.</i>	
ИЗУЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ ХЛОРОПЛАСТНЫЕ БЕЛКИ В ТКАНЯХ ФОРМИРУЮЩИХСЯ ПЛОДОВ ГОРОХА (PISUM SATIVUM L.) В СВЯЗИ С ИХ ФОТОХИМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ	145
<i>Усачева Р. В.</i>	
ОСОБЕННОСТИ МИКРОКЛОНАЛЬНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ ВЗРОСЛЫХ ДЕРЕВЬЕВ ЯСЕНЯ ОБЫКНОВЕННОГО	147
<i>Фелалиев А. С., Махрамов А. М., Бахронов Н. А.</i>	
ГЕНОФОНД СУБТРОПИЧЕСКИХ ПЛОДОВЫХ КУЛЬТУР В УСЛОВИЯХ ГОРНОГО БАДАХШАНА ТАДЖИКИСТАНА	149
<i>Фирсов А. П., Шалойко Л. А., Долгов С. В.</i>	
ЭКСПРЕССИЯ ГРАНУЛОЦИТАРНОГО КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА ЧЕЛОВЕКА В ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЯХ РЯСКИ МАЛОЙ.	151
<i>Ханова А. С., Бондаренко Е. В.</i>	
ОЦЕНКА РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЛЮПИНА БЕЛОГО ПОСЛЕ ПРЕДПОСЕВНОГО ГАММА-ОБЛУЧЕНИЯ СЕМЯН	153
<i>Холдорбеков З. С., Фелалиев А. С.</i>	
ПЕРВИЧНЫЕ ИТОГИ ИЗУЧЕНИЯ ИНТРОДУКЦИИ КРЫЖОВНИКА В УСЛОВИЯХ ГОРНОГО БАДАХШАНА ТАДЖИКИСТАН	155
<i>Хуссиен М., Молканова О. И., Орлова Е. Е.</i>	
ОПТИМИЗАЦИЯ ТЕХНОЛОГИИ КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ И АНАТОМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КОРНЕЙ PHRAGMIPEDIUM KOVACSHI J.T. ATWOOD, DALSTRÖM & RIC.FERNÁNDEZ	157
<i>Царев В. А., Царев А. П., Царева Р. П., Милигула Е. Н.</i>	
РЕЗУЛЬТАТЫ 6-ЛЕТНИХ ИСПЫТАНИЙ НОВЫХ ГИБРИДОВ ОСИНЫ В УСЛОВИЯХ ЦЧР	159
<i>Цатурян Г. А., Цатурян Г. А., Тутберидзе Ц. В., Кондратенко Е. И., Симонян Т. А., Конинская Н. Г., Шхалахова Р.М., Зубачева Е., Сергеева Я.</i>	
СОРТ КАК ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОСНОВА СЕЛЕКЦИОННОГО ПРОЦЕССА ФУНДУКА (CORYLUS PONTICA C. KOCH.) В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ ЮГА РОССИИ	161
<i>Цюпка В. А., Цюпка С. Ю., Синченко А. В.</i>	
ИЗУЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ УСТОЙЧИВОСТИ СОРТОВ МАСЛИНЫ ЕВРОПЕЙСКОЙ К НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОМУ СТРЕССУ	163
<i>Цюпка В. А., Цюпка С. Ю., Месяц Н. В., Смыков А. В.</i>	
ФЕНОТИПИРОВАНИЕ ПЕРСИКА ПО ПРИЗНАКУ ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТЬ	165
<i>Цюпка С. Ю., Цюпка В. А.</i>	
ОЦЕНКА ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ СОРТОВ И ГИБРИДНЫХ ФОРМ МАСЛИНЫ ЕВРОПЕЙСКОЙ	167

<i>Цюпка С. Ю.</i> ПЕРВИЧНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИНТРОДУКЦИИ OLEA EUROPAEA L. ИЗ СИРИЙСКОЙ АРАБСКОЙ РЕСПУБЛИКИ	169
<i>Чекалин А.А., Дуванов И.В., Попова О.В., Пронина И.В., Долгов С.В., Мирошниченко Д.Н.</i> СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ УДВОЕННЫХ ГАПЛОИДОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА ГАПЛОПРОДЮСЕРА	171
<i>Чижова А. А., Пунгин А. В.</i> ФИТОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ И АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ КАЛУСНЫХ КУЛЬТУР И НАТИВНОГО РАСТЕНИЯ РЕДКОГО ВИДА <i>SILENE TATARICA</i> (L.) PERS., ПРОИЗРАСТАЮЩЕГО НА ТЕРРИТОРИИ КАЛИНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ	173
<i>Шамсутдинов Н., Шамсутдинова Э.</i> ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПСАММОГАЛОКСЕРОФИТНОГО КУСТАРНИКА ЧЕРКЕЗА ПАЛЕЦКОГО ДЛЯ ОСВОЕНИЯ ПЕСКОВ В ЦЕНТРАЛЬНОАЗИАТСКОЙ ПУСТЫНЕ	175
<i>Шамсутдинова Э. З., Санжеев В. В., Нидюлин В. Н., Шамсутдинов З. Ш.</i> ЭКОТИПИЧЕСКАЯ СЕЛЕКЦИЯ КОРМОВЫХ ГАЛОФИТОВ – ЭФФЕКТИВНЫЙ СПОСОБ ФОРМИРОВАНИЯ СОЛЕУСТОЙЧИВЫХ СОРТОВ ДЛЯ АРИДНЫХ УСЛОВИЙ ПРИКАСПИЯ	177
<i>Шерматов Ш, Камбурова В., Усманов Д., Убайдуллаева Х., Буриев З., Абдурахмонов И.</i> РАЗРАБОТКА СЪЕДОБНОЙ ВАКЦИНЫ НА ОСНОВЕ ТОМАТА	179
<i>Эльконин Л. А., Геращенко Г. А., Борисенко Н. В., Сарсенова С.Х., Панин В. М.</i> УЛУЧШЕНИЕ ПИТАТЕЛЬНОЙ ЦЕННОСТИ ЗЕРНА СОРГО С ПОМОЩЬЮ ТЕХНОЛОГИИ ГЕНОМНОГО РЕДАКТИРОВАНИЯ: АНАЛИЗ ПОТОМСТВА МУТАНТОВ С ПОВЫШЕННОЙ ПЕРЕВАРИВАЕМОСТЬЮ КАФИРИНОВ	181

## METABOLIC PLASTICITY OF AQUATIC PLANT PROVIDE NEW MODELS FOR SYNTHETIC BIOLOGY

Hou Hong-Wei <sup>1</sup>, Li Gao-Jie <sup>1</sup>, Sun Zuo-Liang <sup>2</sup>, ZHAO Xu-Yao <sup>1</sup><sup>1</sup> *Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, University of Chinese Academy of Sciences*<sup>2</sup> *Weifang University of Science & Technology*  
[huhw@ihb.ac.cn](mailto:huhw@ihb.ac.cn)

Aquatic plants exhibit significant plasticity in phenotype and metabolism to adapt to aquatic habitats. Their unique habitats and metabolic plasticity provided advantages in terms of theoretical studies and production. Among them, a fast growing semi-aquatic plant, *Hygrophila difformis* (Acanthaceae), exhibits striking leaf shape variation in response to various ecological factors. Under submerged conditions, *H. difformis* develops complex leaves and in terrestrial conditions it develops simple leaves. We verified that the plant evolved C4-like photosynthesis in submerged condition and established *H. difformis* as a model for studying photosynthesis and heterophylly in higher aquatic plants. We also worked on another group of fast-growing aquatic plants, duckweeds, which are known to be good candidates for biomass production, CO<sub>2</sub> capture, and "carbon neutrality". Our recent work demonstrated that duckweed can thrive on a variety of exogenous organic carbons in the presence and absence of light (photoautotrophic, photoheterotrophic, mixotrophic, and heterotrophic). Among these growth modes, mixotrophic duckweed exploits the advantages of both the photosynthesis and respiration metabolic pathways and grows much faster than its photoautotrophic and heterotrophic counterparts alone or in combination, indicating a synergistic effect and "crosstalk" between chloroplasts (photosynthesis) and mitochondria (respiration). Our studies establish duckweed as a model for exploiting the metabolic switch for enhanced photosynthetic production of fuels and food, and will also accelerate the engineering and industrialization of duckweeds for bioenergy and biomaterials.

**Keywords:** Aquatic plant; *Hygrophila difformis*; Heterophylly; Duckweed; Trophic modes; Photosynthesis, Metabolic plasticity

## CONSERVATION OF PLANT GENETIC RESOURCES USING CRYOPRESERVATION

Thammasiri K.

*Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Menglun, Mengla,  
Yunnan 666303, China  
[kanchitthammasiri@gmail.com](mailto:kanchitthammasiri@gmail.com)*

Plant Cryopreservation is the preservation of plant species in the form of plant materials outside natural habitats (ex situ conservation), including DNA, pollen, buds, dormant buds, embryonic axes, zygotic and somatic embryos, and seeds at ultra-low temperature (-130°C) but generally prefer to store plant materials using liquid nitrogen at -196°C. The physical and metabolic cellular processes are effectively stopped, and then cryopreserved plant materials can be recovered and grown to regenerate a whole plant after cryopreservation. Plant cryopreservation has been developed since 1960 with the principles of slow cooling and vitrification. There are 7 major steps (1. preculture, 2. osmoprotection, 3. dehydration, 4. store in liquid nitrogen, 5. rapid thawing, 6. unloading, and 7. recovery) generally used for successful plant cryopreservation. The developed methods from the beginning are: 1. Dormant buds, 2. Slow freezing, 3. Vitrification, 4. Encapsulation-dehydration, Encapsulation-vitrification, 6. Droplet-vitrification, 7. V cryo-plate, and 8. D cryo-plate. It is an alternative method for a long-termed plant conservation using less space, less cost, and no environmental effects. Although in some cases, such as storing seeds at -20°C, is more appropriate and less expensive than storage in liquid nitrogen and buds can be stored at -4 to -80°C, but the storage cannot last long. At present, the recent cryopreservation methods use a shorter time, unskillful labors, simple equipment with high survival. In addition, many countries adopt these methods to use for their germplasm storage.

*Keywords:* plant cryopreservation, developed methods

## АНАЛИЗ ПРИЗНАКОВ ПРОДУКТИВНОСТИ СОРТОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ РАЗЛИЧНОГО ЭКОЛОГО-ГЕОГРАФИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В ГОРНОМ БАДАХШАНЕ

Абдуламонов А. К. , Абдуламонов К. , Неккадамова Ф.

*Памирский биологический институт НАНТ  
ahmad79.79@mail.ru*

Исследования проводились в 2017, 2018 и 2020 гг. в Ишкашимском опорном пункте института, расположенного на высоте 2600 м над уровнем моря. В работе проводятся результаты анализов хозяйственно-полезных признаков сортов пшеницы инорайонного происхождения в условиях Горного Бадахшана. Целью работы является выявление среди 13 изученных нами сортов яровой пшеницы селекции Российской Федерации для вовлечения их в гибридную селекцию с местными сортами пшеницы народной селекции таджикского и афганского Бадахшана. Ещё Н.И. Вавилов в работе «Культурная флора Таджикистана в её прошлом и будущем, 1934» писал: «среди местных пшениц Западного Памира находятся чрезвычайно ценные засухоустойчивые, не осыпающие скороспелые, холодостойкие сорта и формы», которые могут быть хорошим исходным материалом в селекционной работе.

Материалом исследований служили следующие сорта мягкой яровой пшеницы: Омская 30, Туба, Чернява 13, Златозара, Саратовская 68, Ленинградская 97, полученные нами из отдела пшеницы ВИРа Российской Федерации и сорта отечественной селекции – Сомони, Истикбол, Шумон, Бобо-80, Из-80, разновидность пшеницы Turnau Udacz. et S. Potok, найденной нами в Бартангской долине, а также сорт пшеницы Блудон (двуручка) из провинции Тах Афганистана. В качестве стандарта использовали местный сорт пшеницы Сафедакишкашимский.

Результаты показали, что сорта пшеницы из России – Омская 30, Туба, Чернява 13, Златозара, Ленинградская 97, и сорта Таджикской селекции – Сомони, Шумон, Из-80, Блудон и местная разновидность пшеницы – Turnau Udacz. et S. Potok в среднем за 3 года по урожайности зерна достоверно уступили стандарту Сафедакишкашимскому на 0,81-1,62 т/га. Разница по этому показателю между стандартом и сортами Саратовская 68, Истикбол и Бобо-80 остаётся в пределах ошибки опыта.

По высоте растений разновидность пшеницы Turnau Udacz. et S. Potok, сорта Омская 30, Туба, Чернява 13 Саратовская 68, в среднем достоверно превысили стандарт на 13,7 – 19,1 см, а сорта Таджикской селекции Сомони, Истикбол, Шумон, и Из-80 уступили стандарту на 13,5 – 18,6 см. Сорта Блудон, Златозара, Ленинградская 97 и Бобо-80 по этому показателю несущественно отклонялись от стандарта. Все сорта пшеницы Российской Федерации Таджикской селекции являлись устойчивыми (7 баллов) и очень высокоустойчивыми (9 баллов) в этих условиях к полеганию и заболеваниям и только разновидность Turnau Udacz. et S. Potok имела среднюю (5 баллов) устойчивость.

Самый продолжительный период – всходы – колошение (68 дней) отмечен только у сорта пшеницы Блудон, а у сорта Сомони, наоборот, колошение отмечено на 5 дней раньше стандарта. Все другие сорта несущественно отклонялись от стандарта. Более короткий – период колошение-созревание (на 5 дней) наблюдался у местной разновидности пшеницы Turnau Udacz. et S. Potok, но более продолжительным (на 5 дней) был у сортов Истикбол и Шумон. Все остальные сорта несущественно отклонялись от стандарта. Более продолжительный период вегетации отмечен у сорта Истикбол (113 дней), т.е. на 4 дня больше, чем у стандартного сорта.

Таким образом выявлено, что для вовлечения в селекционный процесс в условиях Горного Бадахшана по комплексу хозяйственно полезных признаков более перспективными являются сорта отечественной селекции Истикбол, Бобо-80, а из селекции Российской Федерации Чернява 13 и Саратовская 68.

*Ключевые слова:* пшеницы, сорт, селекция, гибридизация, исходный материал, стандарт, разновидность, продолжительность периода скороспелость, урожайность, полегания.

## ANALYSIS OF PRODUCTIVITY TRAITS OF BREAD WHEAT VARIETIES OF VARIOUS ECOLOGICAL AND GEOGRAPHICAL ORIGINS IN GORNO-BADAKHSHAN

Abdulamonov A. , Abdulamonov K. , Nekqadamova F.

*Pamir Biological Institute named after Academician H.Y. Yusufbekov NAST*  
[ahmad79.79@mail.ru](mailto:ahmad79.79@mail.ru)

The studies were conducted in 2017, 2018 and 2020. in the Ishkashim stronghold of the institute, located at an altitude of 2600 m above sea level. The work presents the results of analyzes of economically useful traits of wheat varieties of foreign origin in the conditions of Gorno-Badakhshan. The purpose of the work is to identify among the 13 spring wheat varieties we studied, bred in the Russian Federation, to involve them in hybridization in the breeding process with local wheat varieties of folk selection from Tajik and Afghan Badakhshan.

Also N.I. Vavilov in his work "Cultural flora of Tajikistan in its past and future, 1934" wrote: "among the local wheats of the Western Pamirs there are extremely valuable drought-resistant, non-shattering, early-ripening, cold-resistant varieties and forms," which can be a good source material in breeding work.

The research material was the following varieties of soft spring wheat: Omskaya 30, Tuba, Chernyava 13, Zlatozara, Saratovskaya 68, Leningradskaya 97, obtained by us from the wheat department of VIR of the Russian Federation and varieties of domestic selection - Somoni, Istikbol, Shumon, Bobo-80, Iz-80, wheat variety TurnauUdacz. et S. Potok, which we found in the Bartang Valley, as well as the Bludon (two-handled) wheat variety from the Takhor province of Afghanistan. The local wheat variety Safedak Ishkashim was used as a standard.

The results showed that wheat varieties from Russia - Omskaya 30, Tuba, Chernyava 13, Zlatozara, Leningradskaya 97, and varieties of Tajik selection - Somoni, Shumon, Iz-80, Bludon and a local variety of wheat - Turnau Udacz. et S. Potok, on average over 3 years, the grain yield was reliably inferior to the Safedak Ishkashim standard by 0.81-1.62 t/ha.

The difference in this indicator between the standard and the Saratovskaya 68, Istikbol and Bobo-80 varieties remains within the experimental error.

According to plant height, the wheat variety is Turnau Udacz. et S. Potok, varieties Omskaya 30, Tuba, Chernyava 13, Saratovskaya 68, on average significantly exceeded the standard by 13.7 - 19.1 cm, and the Tajik selection varieties Somoni, Istikbol, Shumon, and Iz-80 were 13 cm lower than the standard 13.5 – 18.6 cm. The varieties Bludon, Zlatozara, Leningradskaya 97 and Bobo-80 did not significantly deviate from the standard according to this indicator. All wheat varieties of the Russian Federation and Tajik selection were resistant (7 points) and very highly resistant (9 points) under these conditions to lodging and diseases, and only the Turnau Udacz variety. et S. Potok had average (5 points) resistance.

The longest period – germination – heading (68 days) was observed only in the wheat variety Bludon, and in the Somoni variety, on the contrary, heading was noted 5 days earlier than the standard. All other varieties did not deviate significantly from the standard. A shorter heading-ripening period (5 days) was observed in the local wheat variety TurnauUdacz. et S. Potok, but longer (5 days) in the Istikbol and Shumon varieties. All other varieties deviated insignificantly from the standard. A longer growing season was noted for the Istikbol variety (113 days), i.e. 4 days more than the standard variety.

Thus, it was revealed that for involvement in the selection process in the conditions of Gorno-Badakhshan, in terms of a complex of economically useful traits, the varieties of domestic selection Istikbol, Bobo-80, and from the selection of the Russian Federation Chernyava 13 and Saratovskaya 68 are more promising.

**Keywords:** wheat, variety, breeding, hybridization, source material, standard, variety, duration of the period of precocity, yield, lodging.



## ПОИСК ДНК-МАРКЕРОВ, ПОДХОДЯЩИХ ДЛЯ ДНК-БАРКОДИНГА ПЕРЕДНЕАЗИАТСКИХ ВИДОВ РОДА *GLADIOLUS* L.

Антипин М. И.

НОЦ "Ботанический сад Петра I" биологического факультета МГУ  
[sagefool@yandex.ru](mailto:sagefool@yandex.ru)

Современная систематика растений немислима без учёта молекулярных данных, позволяющих непредвзято оценить объёмы таксонов и степень их родства. Тем не менее получение молекулярных данных по-прежнему связано со значительными затратами времени и средств. Перед исследователем определённой группы растений таким образом естественно возникает задача получить максимум информации, дифференцирующей таксоны, с минимальными затратами. Метод ДНК-баркодинга использует для идентификации таксонапоследовательности, получаемые при помощи универсальных праймеров: для растений в качестве баркодов предлагались в свое время последовательности ядерных (ITS) и пластомных генов, однако их разрешающая способность иногда оказывается недостаточной, и тогда исследователю приходится самостоятельно осуществлять поиск более подходящих последовательностей.

У видов рода *Gladiolus* L. (Iridaceae) два очага разнообразия: хорошо изученная Капская область Южной Африки, где сосредоточено более 100 эндемичных видов из 300 в роде в целом, и Восточное Средиземноморье с прилегающими аридными регионами Передней Азии и Кавказа, где общепризнанных видов на порядок меньше, но в последние полвека продолжают описывать новые виды. Нет единой точки зрения и на объём и родственные связи многих описанных в XX веке азиатских таксонов. В настоящее время не существует ни одной полноценной работы, использующей молекулярные данные для уточнения филогении внутри этой группы видов.

В данной работе предпринята попытка оценить информативность и удобство использования в качестве ДНК-баркодов нескольких традиционно применявшихся в этой роли маркеров для переднеазиатской группы видов рода *Gladiolus*. Для этого были взяты образцы трёх достаточно близких, но хорошо различающихся морфологически и экологически видов рода с переднеазиатскими ареалами (*G. atroviolaceus*, *G. kotschyanus*, *G. szovitsii*, по два и более образца из разных локаций для одного вида) из гербариев MW, ERE и полевых сборов автора: в качестве внешней группы были взяты последовательности для европейского вида *G. communis* из ГенБанка.

Пластомные последовательности хорошо амплифицируются стандартными праймерами: их недостаток – низкая разрешающая способность. Наиболее мономорфной, не позволяющей различить виды, оказалась частичная последовательность гена *rbcl*, т.н. *rbcl-a* (ок.500 н.п.). Пять переменных локусов на примерно 800 н.п. последовательности *matK* (праймеры Kim) группируют образцы отдельных видов вместе, при этом различая виды между собой. Наконец, маркер *trnL-F* (объединенные последовательности *trnL*-интрона и *trnL-trnF* межгенного спейсера) для данных четырех видов дают десять переменных участков на 750 н.п., что позволяет не только различить виды, но и обнаружить некоторый внутривидовой полиморфизм широкоареального *G. atroviolaceus* из различных локаций.

Обладая на порядок большей информативностью, популярные баркоды ITS оказались мало пригодны для баркодирования гладиолусов из-за низкой специфичности стандартных праймеров. Электрофорез ПЦР-продуктов в этом случае почти всегда показывает минимум две полосы, так как исходные образцы, как гербарные, так и свежие полевые сборы, оказываются контаминированы ДНК грибов. Разделение ПЦР-продуктов препаративным форе́зом дополнительно удорожает данные, не устраняя полностью из смеси грибные последовательности ДНК с близкой молекулярной массой, и сиквенсы часто оказываются двоящимися до полной нечитаемости.

Использование более специфичных праймеров ITS-р несколько снижает уровень шума на итоговом сиквенсе, но не решает проблемы полностью.

## IN SEARCH OF DNA MARKERS SUITABLE FOR DNA BARCODING OF WESTERN ASIAN SPECIES OF *GLADIOLUS* L.

Antipin M. I.

*Scientific and Educational centre "Peter the Great botanical garden", Lomonosov Moscow State University*  
[sagefool@yandex.ru](mailto:sagefool@yandex.ru)

Molecular data are crucial for modern plant systematics, providing the most unbiased estimates of taxon limits and relations. Yet obtaining molecular data can be quite expensive considering lab resources, time and money. Thus a researcher has to pursue a natural goal of getting more information at minimal expense. DNA barcoding methods use short DNA sequences obtained with universal primers for taxon identification. Several nuclear (ITS) and plastome markers were proposed as universal barcodes for plants and were successfully used as those for many plant groups. Still in certain groups these popular barcodes fail to discriminate between taxons of interest, and then investigators have to go on a personal quest for better suiting barcodes.

Genus *Gladiolus* L. (Iridaceae) has two very distinct biodiversity hotspots: the thoroughly studied Cape floristic region with its more than 100 endemic species out of 300 in the genus, and Eastern Mediterranean with adjoining arid regions of Western Asia, where the number of well recognized species is tenfold less, but new species continue to be described during the last 50 years. Opinions vary also regarding the limits and relations of many Western Asian species described earlier in XX century. At present there are no publications that would successfully use molecular data to undermine the phylogeny within this group of species. This work is an attempt to estimate the applicability of a group of several DNA markers, traditionally used as DNA barcodes, as an informative and easy key to phylogeny of Western Asian *Gladiolus* species.

We selected three Western Asian species, thought to be close enough, but quite distinct in regards to morphology and habitat preferences (*G.atroviolaceus*, *G.kotschyanus*, *G.szovitsii*). At least two samples from spatially different populations were taken for each species from MW and ERE herbariums and the author's field collections. Sequences for a European species *G.communis* from GenBank were used as an outgroup.

Plastome sequences are known to amplify quite well with universal standard primers. Their main disadvantage is their relatively low variability, which is sometimes not enough to separate the species of a genus well. A partial *rbcl* gene sequence of about 500 np, so called *rbcl-a*, proved to be the least variable for our group, totally failing to separate the species. Five variable loci of about 800np long *matK* gene partial sequence have grouped the samples within the species together, at the same time separating all four species from each other. Finally *trnL-F* sequence (joined sequence of *trnL* intron and *trnL-trnF* intergenic spacer) has about 10 variable loci in a sequence about 750 np long, which proves enough to separate the 4 species and even shows some interspecific polymorphism for samples of widely distributed *G.atroviolaceus* from different locations.

The ITS sequences, being quite popular as plant barcodes due their highly informative variability, proved to be problematic for barcoding Gladioli because of low specificity of standard universal primers. Most *Gladiolus* samples, both herbarium specimens and fresh field collections, appear to be contaminated with fungal DNA that gets amplified together with plant DNA, and electrophoresis of PCR products usually yields at least two bands. Preparative EP separation of plant and fungal PCR products doubles the expense of data, at the same time it fails to eliminate fungal amplicones with similar molecular mass fully, which often results in unreadable doubling sequence reads. Plant specific ITS-p primers help to get rid of fungal amplicones with lower molecular mass and to reduce the noise level in sequence reads, but do not solve the problem fully.

## ВОСЬМАЯ ХРОМОСОМА, КАК ВОЗМОЖНОЕ МЕСТО ЛОКАЛИЗАЦИИ ГЕНОВ ПАРТЕНОГЕНЕЗА У КУКУРУЗЫ

Апанасова Н. В. , Юдакова О. И.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования  
«Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г.  
Чернышевского»  
[apanasova.natasha@mail.ru](mailto:apanasova.natasha@mail.ru)

Гаплоидные растения используются для ускоренного создания чистых линий и высокопродуктивных гибридов. Низкая частота спонтанной гаплоидии (0,01-0,001%) заставляет исследователей искать различные способы ее искусственного повышения. Зачастую это сложно сделать из-за недостатка знаний о генетической детерминации партеногенеза – основного механизма образования гаплоидов. Уникальные партеногенетические линии кукурузы с наследственной предрасположенностью к матроклинной гаплоидии были созданы на кафедре генетики Саратовского государственного университета имени Н.Г. Чернышевского. У растений этих линий яйцеклетки способны развиваться в зародыш без оплодотворения. В результате средняя частота гаплоидов в потомстве составляет 10-15%. Количество гаплоидов возрастает при искусственной задержке опыления до 7 суток. Изучение данных линий может способствовать пониманию генетической детерминации партеногенеза у растений.

Для определения локализации генетических факторов, отвечающих за наследуемый партеногенез, был проведен анализ 15 линий АТТМ. Они были выведены от скрещивания материнской линии Тестер Мангельсдорфа (ТМ), каждая хромосома которой маркирована рецессивным геном, и отцовской линии АТ 1 (Апомиктичная Тырнова 1) с наследственной предрасположенностью к матроклинной гаплоидии. Линии серии АТТМ различаются комбинациями хромосом, унаследованных от их родительских форм. Гаплоидные растения регулярно встречались у 14 из 15 изученных линий. У одной линии появления гаплоидов в потомстве не зарегистрировано.

Линии с повышенной частотой гаплоидии характеризовались разными комбинациями маркерных признаков, унаследованных от линии ТМ. В то же время их объединяло отсутствие маркерных ген *a1* (*anthocyaninless*) и *j1* (*japonica*), локализованных в 3 и 8 хромосомах. Следовательно, все эти линии унаследовали 3 и 8 немаркированные хромосомы от линии АТ 1, а с ними, как можно было бы предположить, и наследственную предрасположенность к партеногенезу. Однако несклонная к партеногенезу линия АТТМ (*bm<sub>2</sub>*, *lg<sub>1</sub>*, *y<sub>1</sub>*, *j<sub>1</sub>*) имеет немаркированную третью хромосому от линии АТ 1 и восьмую хромосому с геном *j<sub>1</sub>* от линии ТМ, что заставляет исключить третью хромосому из списка кандидатов, ответственных за детерминацию партеногенеза.

Таким образом, полученные результаты дают основания полагать, что у кукурузы восьмая хромосома является наиболее вероятным местом локализации гена или генов, отвечающих за партеногенез.

## THE EIGHTH CHROMOSOME AS A POSSIBLE LOCATION OF PARTHENOGENESIS GENES IN MAIZE

Apanasova N. V. , Yudakova O. I.

*Saratov State University*  
[apanasova.natasha@mail.ru](mailto:apanasova.natasha@mail.ru)

Haploid plants are used for accelerated creation of pure lines and highly productive hybrids. Low frequency spontaneous haploidy (0.01-0.001%) forces researchers to look for various ways to artificially increase it. This is often difficult to do due to lack of knowledge about the genetic determination of parthenogenesis, which is the main mechanism for the formation of haploids. Unique parthenogenetic lines of corn with inherited matroclinal haploidy were created at the Department of Genetics of Saratov State University. The egg cells of these plants are able to develop into an embryo without fertilization. As a result, the average frequency of haploids in the offspring is 10-15%. The number of haploids increases with an artificial delay of pollination up to 7 days. Studying these lines can contribute to understanding the genetic determination of parthenogenesis in plants.

Analysis of 15 lines of the ATTM series was carried out to determine the localization of genetic factors responsible for inherited parthenogenesis. These lines were derived from crossing the maternal line Tester Mangelsdorff (TM), ea chromosome of which is marked with a recessive genes, and the paternal line AT 1 (Apomictic Tyrnova 1) with a hereditary predisposition to matroclinal haploidy. The lines of the ATTM series differ in combinations of chromosomes inherited from their parental forms. Haploid plants were regularly found in 14 of the 15 studied lines. The occurrence of haploids in the offspring was not recorded only in one line.

Lines with an increased frequency of haploidy are characterized by different combinations of marker traits inherited from the TM line. At the same time, they are united by the absence of marker geny *a1* (*anthocyaninless*) and *j1* (*japonica*) *j1*, localized in the 3rd and 8th chromosomes. Therefore, all these lines inherited the 3rd and 8th unmarked chromosomes from the AT 1 line. It could be assumed that they inherited the ability to parthenogenesis with these chromosomes. However, the ATTM (*bm<sub>2</sub>*, *lg<sub>1</sub>*, *y<sub>1</sub>*, *j<sub>1</sub>*) line, that is unable to produce haploids, also has an unmarked 3rd chromosome from the AT 1 line, but an 8th chromosome with the *j1* gene from the TM line. This forces us to exclude the 3rd chromosome from the list of candidates responsible for the determination of parthenogenesis. Thus, the obtained results give grounds to believe that the eighth chromosome is the most likely location of the gene or genes responsible for parthenogenesis in maize.

## БИОРАЗНООБРАЗИЕ МАЛИНЫ В УСЛОВИЯХ ЗАПАДНОГО ПАМИРА

Асмаатбекова Ф. Я.<sup>1</sup>, Исмоилов М. Т.<sup>1</sup>, Мирзорохимзода А. К.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Памирский биологический Институт Национальной Академии Республики Таджикистан

<sup>2</sup>Институт ботаники, физиологии и генетики растений Национальной Академии Республики Таджикистан  
[farzinaa@mail.ru](mailto:farzinaa@mail.ru)

Малина широко распространена в средних и северных зонах Таджикистана, включая Горно-Бадахшанскую Автономную область, за исключением Мургабского района и самых высокогорных поясов. В условиях Западного Памира из-за горного территориального расположения и климатических условий население не всегда может своевременно снабжаться этой ягодной культурой. Малина-это кустарник, который используют в фармакологии, ягодоводстве и в качестве декорации. Все сорта и виды малины одинаково адаптируются в условиях высокогорья Песалмира. соблюдать технологию возделывания, то малина будетвысокорентабельной культурой. На мировом и внутреннем рынке спрос на малину очень высокий и с каждым годом он растет. В условиях Западного Памира ягоды малины стоят очень дорого и приобрести их сложно. Малину можно использовать в свежем и замороженном виде.

В ходе исследований в 2007 году на Памире было отмечено присутствие малины как в культурном, так и в диком виде. В селах районов, начиная с Дарвазского района, в Вишхарве, Калаихумбе и Нульванде, малина встречается в приусадебных участках местного населения. В кишлаке Висхарв Дарвазского района на высоте 1500 м. над уровнем моря произрастает чёрная малина в диком виде. Она занимает территорию около 36 квадратных метров.

На Западном Памире произрастает более 8 сортов малины: Новость Кузьмина, Беглянка, Блестящая, Ранний Сюрприз, Кутбес, ремонтантная Биллиарда, Калужанка и Чёрная малина (*Rubusleucodermus*). Такие сорта, как: Беглянка, Блестящая, Ранний сюрприз, Ремонтантная Биллиарда и Калужанка, имеют различные качества характеристики, что делают их популярными среди садоводов высокогорного Памира. Сорт Беглянка характеризуется крупными сладкими ягодами, сорт Блестящая - высокой урожайностью, а сорт Ранний Сюрприз - ранним началом сбора урожая.

В условиях Западного Памира, где климат может быть суровым, сорта малины должны быть выбраны с учетом особенностей этого региона. Для надежного урожая в условиях низких температур и короткого сезона подойдут ранние сорта малины, например, как сорт Ранний сюрприз и сорта с хорошей устойчивостью к заболеваниям, такие, как сорт Калужанка, которые могут успешно расти на Западном Памире.

Разнообразие сортов малины в условиях высокогорья принесет возможность этому растению адаптироваться к изменяющимся условиям климата и обеспечит продолжительный и стабильный урожай для местных жителей. Для успешного выращивания малины в Западном Памире необходимо тщательно выбирать подходящие сорта, учитывать климатические условия и доступность ресурсов, а также следовать правильной технологии выращивания для обеспечения хорошего урожая и качества ягод. Для выращивания малины в некоторых регионах Западного Памира лучше всего подходят сорта, адаптированные к холодным климатическим условиям и с коротким вегетационным периодом.

*Ключевые слова:* малина, районы Западного Памира, сорта, Беглянка, Блестящая, разнообразие.

## BIODIVERSITY OF RASPBERRIES IN THE WESTERN PAMIRS

Asmatbekova F.Y.<sup>1</sup>, Ismailov M.T.<sup>1</sup>, Mirzorakhimzoda A.K.<sup>2</sup><sup>1</sup>*Pamir Biological Institute of the National Academy of the Tajikistan.*<sup>2</sup>*Institute of Botany, Physiology and Plant Genetics of the National Academy of Tajikistan  
[farzinaa@mail.ru](mailto:farzinaa@mail.ru)*

Raspberries are widespread in the middle and northern zones of Tajikistan, including the Gorno-Badakhshan Autonomous Region, with the exception of the Murghab district and the highest mountain belts. In the conditions of the Western Pamirs, due to the mountainous territorial location and climatic conditions, the population cannot always be supplied with this berry crop in a timely manner. Raspberry is a shrub that is used in pharmacology, berry growing and as a decoration. All varieties and types of raspberries adapt equally to the conditions of the Pamir highlands. If you follow the cultivation technology, then raspberries will be a highly profitable crop. The demand for raspberries is very high in the global and domestic markets and it is growing every year. In the Western Pamirs, raspberries are very expensive and difficult to purchase. Raspberries can be used fresh and frozen.

During research in 2007, the presence of raspberries in both cultivated and wild forms was noted in the Pamirs. In the villages of the districts, starting from Darvaz region, in Visharva, Kalaikhumba and Nulvand, raspberries are found in the household plots of the local population. In village Visharv Darvaz region at an altitude of 1500 m. above sea level, black raspberries grow wild. It covers an area of about 36 square meters.

More than 8 varieties of raspberries growing in the Western Pamirs: Novost Kuzmina, Beglyanra, Blestyashaya, Early Surprise, Cutbes, remontant Billiard, Kaluzhanka and Black raspberry (*Rubus leucodermis*). Varieties such as: Beglyanra, Blestyashaya, Early Surprise, Remontant Billiard and Kaluzhanka have different qualities and characteristics, which make them popular among gardeners in the high-mountain Pamirs. The Beglyanka variety is characterized by large sweet berries, the Blestyashaya variety is characterized by high productivity, and the Early Surprise variety has an early start to harvest.

In the Western Pamirs, where the climate can be harsh, raspberry varieties must be selected taking into account the characteristics of this region. For a reliable harvest in conditions of low temperatures and a short season, early raspberry varieties are suitable, for example, as the Early Surprise variety and varieties with good resistance to diseases, such as the Kaluzhanka variety, which can grow successfully in the Western Pamirs.

A variety of raspberry varieties in the high mountain conditions and will provide a long and stable harvest for local residents. To successfully grow raspberries in the Western Pamirs, it is necessary to carefully select suitable varieties, take into account climatic conditions and the availability of resources, and also follow the correct growing technology to ensure a good yield and quality of berries. For growing raspberries in some of the Western Pamirs varieties adapted to cold climatic conditions and with a short growing season are best suited.

Keywords: raspberries, regions of the Western Pamirs, varieties, Runaway, Brilliant, diversity.

## ОЗДОРОВЛЕНИЕ ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА ВИНОГРАДА ОТ ЛАТЕНТНОЙ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В УСЛОВИЯХ *IN VIVO*

Батукаев А., Дудаева А., Батукаев А.

ФГБУ "Чеченский научно-исследовательский институт сельского хозяйства", Грозный  
ФГБОУ ВО "Чеченский государственный университет им. А.А. Кадыева"  
[batukaevmalik@mail.ru](mailto:batukaevmalik@mail.ru)

Основными методами оздоровления растений культур от вирусов в настоящее время являются суховоздушная термотерапия, культура меристематических верхушек и хемотерапия *in vivo*. Для проведения хемотерапии *in vivo* используются эффективные противовирусные препараты. Фармайод 10% - это эффективный биологический препарат, который применяется для борьбы с болезнями растений вирусной, грибной и бактериальной природы.

Для этого суховоздушную термотерапию растений винограда от вредоносных вирусов GVA, GVB, RSPaV, GFL, GFkV, GLRaV 1, 2, 3 с применением термокамеры совмещали с обработкой растений препаратом Фармайод концентрациях 0,5 мл/л (что соответствует 0,05%) и 1,0 мл/л (что соответствует 0,1 %). После завершения термо- и хемотерапии верхушки побегов длиной 2-3 см тестировали на наличие вирусов с помощью ОТ-ПЦР, затем здоровые растения использовали в качестве доноров меристематических верхушек для введения в культуру *in vitro*.

Выход свободных от вирусов растений винограда зависел от вида вируса. Наибольший выход свободных растений (100%) отмечен для вируса скручивания листьев штаммов GLRaV-1; GLRaV-2; GLRaV-3. От вируса скручивания листьев винограда штаммов GLRaV-1,2,3 удалось освободить растения во всех вариантах опыта (100 %), вероятнее всего за счет его термолабильности. Наименьший выход свободных от вируса растений в контроле (термотерапия без препарата) отмечен в отношении вирусов комплекса бороздчатости древесины винограда RSPaV и GVA (50 %), что обусловлено, вероятнее всего, термостабильностью данного вируса. Вместе с тем в вариантах с Фармайодом выход свободных от вирусов комплекса бороздчатости древесины винограда RSPaV и GVA растений винограда увеличился на 25 % в сравнении с контролем. Выход свободных от вируса крапчатости GFkV растений винограда варьировал от 75% до 100 % в зависимости от варианта опыта. Таким образом, выход свободных от вирусов растений винограда зависел от вида вируса. Наибольший выход свободных от вирусов растений отмечен для вирусов скручивания листьев винограда GLRaV-1,2,3 ACLSV (100 %), меньший выход – для вирусов комплекса бороздчатости древесины винограда RSPaV и GVA (50 %). В целом с использованием метода суховоздушной термотерапии без применения препарата Фармайод выход свободных от 7 основных вредоносных вирусов растений составил 50-75 %, с применением препарата – 75-100 %.

Полученные результаты позволяют рекомендовать использовать препарат Фармайод в концентрации 0,05% и 0,1% в комплексе с суховоздушной термотерапией на этапе подготовки исходного материала винограда для последующего оздоровления с помощью клонального микроразмножения от наиболее экономически важных и распространенных вирусных инфекций: Grapevine virus A (GVA), Grapevine virus B (GVB), Grapevine Rupestris stem pitting- associated viruses (RSPaV), Grapevine fanleaf virus (GFLV), Grapevine leafroll-associated viruses–s1, 2, 3 (GLRaV 1, 2, 3), Grapevine fleck virus (GFkV). Эффективность оздоровления растений винограда от вирусной инфекции подтверждена тестированием на ОТ-ПЦР.

## RECOVERY OF GRAPE SOURCE MATERIAL FROM LATENT VIRAL INFECTION *IN VIVO*

Batukaev A. A., Dudaeva A. , Batukaev A.

*Federal State Budgetary Educational Institution "Chechen Research Institute of Agriculture"  
Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Chechen State University  
named after A.A. Kadyrov", Grozny  
[batukaevmalik@mail.ru](mailto:batukaevmalik@mail.ru)*

The main methods of recovery of crop plants from viruses are currently dry-air thermotherapy, meristematic apex culture and *in vivo* chemotherapy. Effective antiviral drugs are used for *in vivo* chemotherapy. Farmayod 10% is an effective biological drug used to combat plant diseases of viral, fungal and bacterial origin.

For this purpose, dry-air thermotherapy of grape plants from harmful viruses GVA, GVB, RSPaV, GFL, GFkV, GLRaV 1, 2, 3 using a thermal chamber was combined with treatment of plants with Farmayod in concentrations of 0.5 ml/l (which corresponds to 0.05%) and 1.0 ml/l (which corresponds to 0.1%). After completion of thermo- and chemotherapy, 2-3 cm shoot tips were tested for viruses using RT-PCR, then healthy plants were used as donors of meristematic tips for introduction into *in vitro* culture. The yield of virus-free grape plants depended on the type of virus. The highest yield of free plants (100%) was noted for the leafroll virus strains GLRaV-1; GLRaV-2; GLRaV-3. It was possible to free plants from the grape leafroll virus strains GLRaV- 1,2,3 in all experimental variants (100%), most likely due to its thermolability. The lowest yield of virus-free plants in the control (thermotherapy without the drug) was noted for the grape wood grooving complex viruses RSPaV and GVA (50%), which is most likely due to the thermal stability of this virus. At the same time, in the variants with Farmayod, the yield of grape plants free from the RSPaV and GVA grape grove complex viruses increased by 25% compared to the control. The yield of grape plants free from the GFkV mottle virus varied from 75% to 100% depending on the experimental variant. Thus, the yield of virus-free grape plants depended on the type of virus. The highest yield of virus-free plants was noted for the GLRaV-1,2,3 ACLSV grape leafroll viruses (100%), a lower yield - for the RSPaV and GVA grape grove complex viruses (50%). In general, using the dry-air thermotherapy method without the Farmayod drug, the yield of plants free from 7 main harmful viruses was 50-75%, with the use of the drug - 75-100%. The obtained results allow us to recommend using the drug Farmayod in a concentration of 0.05% and 0.1% in combination with dry-air thermotherapy at the stage of preparing the initial grape material for subsequent recovery using clonal micropropagation from the most economically important and common viral infections: Grapevine virus A (GVA), Grapevine virus B (GVB), Grapevine Rupestris stem pitting-associated viruses (RSPaV), Grapevine fanleaf virus (GFLV), Grapevine leafroll-associated viruses—1, 2, 3 (GLRaV 1, 2, 3), Grapevine fleck virus (GFkV). The effectiveness of recovery of grape plants from viral infection is confirmed by RT-PCR testing.



## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНЫХ СРОКОВ ВВЕДЕНИЯ ЗЕМЛЯНИКИ САДОВОЙ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO*

Батукаев А. А. , Асхабов Б. Х.

ФГБУ "Чеченский научно-исследовательский институт сельского хозяйства", Грозный  
ФГБОУ ВО "Чеченский государственный университет им. А.А. Кадырова"  
[batukaevmalik@mail.ru](mailto:batukaevmalik@mail.ru)

Выращивание земляники садовой является одним из самых прибыльных направлений в садоводстве и является востребованной ягодой во всем мире. Более 75 стран занимаются производством земляники [1, 2]. В экспериментах были задействованы сорта земляники, которые пользуются большим спросом в различных типах хозяйств, включая как коммерческие, так и частные садоводства, а также они были адаптированы к условиям Северного Кавказа — это сорта Ирма и Елизавета. Заготовка исходного материала для зимнего введения производилась в октябре, чтобы гарантировать его качество и пригодность для дальнейшего размножения. Неукорененные розетки были очищены от листвы, чтобы избежать проблем с хранением и введением их в культуру *in vitro*. Корни отсутствовали или имели минимальное развитие в этом материале. Следующим этапом была подготовка и сохранение материала в течение 3-4 месяцев в холодильнике при температуре 4°C. Для этой цели использовали полиэтиленовые пакеты, которые обеспечивали необходимую влажность и защиту от неблагоприятных условий. Такое хранение позволяло сохранить жизнеспособность и способность эксплантов к вегетативному росту. Февраль был выбран оптимальным периодом для введения материала в культуру *in vitro*, так как в это время происходило активное развитие ростовых процессов, появление новых листьев и формирование молодых корешков. Этот период обеспечивал высокую выживаемость и способность эксплантов к регенерации. В летние (июнь, август) и осенний (октябрь) периоды розетки брались с вегетирующих растений. Такой подход позволял рассмотреть влияние различных сезонных условий на рост и развитие растений. В среднем, при введении в стерильную культуру наибольший процент жизнеспособных эксплантов земляники наблюдали в феврале (82%) и августе (75%), а в июне и октябре — лишь 47% и соответственно. Количество инфицированных и погибших от некроза меристем в феврале и августе составило 18% и 25%; в июне и октябре — 53% и 56%, соответственно. При введении в культуру *in vitro* в феврале экспланты земляники сортов Ирма и Елизавета характеризовались высокой регенерационной способностью: 86% у сорта Ирма и 78% у сорта Елизавета. Высокая морфогенетическая активность эксплантов объясняется тем, что при выходе из состояния покоя в позднезимний период клетки меристем находятся в состоянии наиболее активного роста. Это подтверждается тем, что неразвившихся меристем практически не было (1–2%). Жизнеспособные меристемы развивались равномерно, были интенсивно зелеными, к концу первого пассажа высота многих превышала 1,5 см. Регенерационная активность земляники сорта Елизавета была несколько ниже, чем у сорта Ирма. Благоприятными сроками изоляции культивирования меристем сорта Елизавета также оказались февраль и август со значительным снижением приживаемости эксплантов в октябре (с 78% до 41%), после прекращения вегетации. Количество неразвившихся и инфицированных меристем в осенний период также был значительным и составил соответственно 20% и 39%.

## DETERMINING THE OPTIMAL TIMING OF INTRODUCING GARDEN STRAWBERRIES INTO IN VITRO CULTURE

Batukaev A. A., Askhabov B. K.

*Federal State Budgetary Educational Institution "Chechen Research Institute of Agriculture"*  
[batukaevmalik@mail.ru](mailto:batukaevmalik@mail.ru)

Growing garden strawberries is one of the most profitable areas in horticulture and is a sought-after berry all over the world. More than 75 countries are engaged in strawberry production. The experiments involved strawberry varieties that are in high demand in various types of farms, including both commercial and private gardening, and they were also adapted to the conditions of the North Caucasus - these are the Irma and Elizaveta varieties. The initial material for winter introduction was prepared in October to ensure its quality and suitability for further propagation. Unrooted rosettes were cleared of foliage to avoid problems with storage and their introduction into in vitro culture. Roots were absent or had minimal development in this material. The next step was the preparation and storage of the material for 3-4 months in a refrigerator at a temperature of 4 °C. For this purpose, polyethylene bags were used, which provided the necessary humidity and protection from adverse conditions. Such storage allowed preserving the viability and ability of explants for vegetative growth. February was chosen as the optimal period for introducing the material into in vitro culture, since this was the time of active development of growth processes, emergence of new leaves and formation of young roots. This period ensured high survival rate and ability of explants for regeneration. In summer (June, August) and autumn (October) periods, rosettes were taken from vegetative plants. This approach allowed considering the influence of various seasonal conditions on plant growth and development. On average, when introducing into sterile culture, the highest percentage of viable strawberry explants was observed in February (82%) and August (75%), and in June and October – only 47% and 44%, respectively. The number of infected and dead meristems from necrosis in February and August was 18% and 25%; in June and October – 53% and 56%, respectively. When introduced into in vitro culture in February, the explants of the Irma and Elizaveta strawberry varieties were characterized by a high regenerative capacity: 86% for the Irma variety and 78% for the Elizaveta variety. The high morphogenetic activity of the explants is explained by the fact that when exiting the dormant state in the late winter period, the meristem cells are in a state of most active growth. This is confirmed by the fact that there were practically no undeveloped meristems (1-2%). Viable meristems developed uniformly, were intensely green, and by the end of the first passage, many exceeded 1.5 cm in height. The regenerative activity of the Elizaveta strawberry variety was somewhat lower than that of the Irma variety. February and August also turned out to be favorable periods for isolating and cultivating the meristems of the Elizaveta variety, with a significant decrease in the explant survival rate in October (from 78% to 41%), after the cessation of vegetation. The number of undeveloped and infected meristems in the autumn period was also significant and amounted to 20% and 39%, respectively.

## ВЛИЯНИЕ МУТАЦИЙ В ПРОМОТОРЕ ГЕНОВ PPD-1, ПОЛУЧЕННЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГЕНОМНОГО РЕДАКТИРОВАНИЯ, НА СУТОЧНЫЙ ПАТТЕРН ЭКСПРЕССИИ ЭТИХ ГЕНОВ И НА ВРЕМЯ КОЛОШЕНИЯ У *T. AESTIVUM* L.

Бережная А. А.<sup>\*1</sup>, Киселева А. А.<sup>1,2</sup>, Салина Е. А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН)

<sup>2</sup>Курчатовский геномный центр, Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

[BerezhnayaAA@bionet.nsc.ru](mailto:BerezhnayaAA@bionet.nsc.ru)

Время созревания культурных растений является одним из основных факторов, определяющих приспособленность к окружающей среде, что, в свою очередь, влияет на урожайность. Переход к генеративной фазе развития в значительной степени регулируется чувствительностью к фотопериоду. У пшеницы чувствительность к фотопериоду контролируется генами PPD-1. Известно, что аллели PPD-1, не относящиеся к дикому типу, имеют измененный паттерн экспрессии, что приводит к усилению транскрипции в течение дня и, как следствие, к более раннему колошению. В промоторе генов расположен ряд сайтов связывания с факторами транскрипции (CHE, BOX1PCCNS, CCA-1, VOZ-2, LHY), которые регулируют экспрессию. Мы использовали CRISPR/Cas9 для получения коллекции растений с мутациями в промоторной области генов PPD-1, коллекцию мутантных растений мы использовали для выяснения функции сайтов связывания факторов транскрипции, обнаруженных в промоторе PPD-1.

Из 1470 эмбрионов, подвергшихся библистической обработке, было получено 193 регенеранта. Скрининг мутаций проводился методом ПЦР со специфическими праймерами к промоторным участкам ген *Ppd-B1* и *Ppd-D1*. Точная оценка полученных мутаций была проведена с помощью секвенирования по Сэнгеру и NGS. Наличие трансгена определяли путем амплификации фрагментов sgRNA и гена BAR. Из 142 проанализированных растений 54 (38%) несли мутации по крайней мере в одном гене-мишени *P* (*pd-B1* и/или *Ppd-D1*). Большинство полученных мутаций в промоторе были делециями; длина делеций варьировала от единичных замен до сотен нуклеотидов. Мутантные генотипы были получены в гетерозиготном, би- и гомозиготном состоянии. Большинство мутантов T0 были гетерозиготными, 18 растений T0 с мутациями не содержали трансгенов. Экспрессия генов *Ppd-B1* и *Ppd-D1* была изучена в растениях T0 и T1 с помощью ПЦР в реальном времени. Было показано, что циркадный ритм экспрессии генов дикого типа нарушается у мутантов как с делециями, так и с делециями. У контрольных растений дикого типа гены PPD-1 активны в течение дня и неактивны ночью, тогда как у растений с мутациями эти гены постоянно активны в течение дня.

Поклоение T1 высаживали в теплице в условиях длительного светового дня и оценивали фенотип (появление первого узла и время появления всходов). Растения T1 с делециями сайтов CHE, BOX1PCCNS, CCA-1, VOZ-2 (200 п.н.) в промоторе гена *Ppd-D1* выколашивались на 3-5 дней раньше по сравнению с контролем ( $p < 0,001$ ). Короткие делеции в промоторных областях генов PPD-1, которые затрагивали только один сайт связывания, также были ассоциированы с более ранним выколашиванием. Так, нами не было обнаружено значимых различий во времени колошения между растениями с делециями 276 п.н. и 42 п.н. в гене *Ppd-D1*. Короткая делеция 42 п.н. затронула только сайт BOX1PCCNS, в то время как делеция 276 п.н. затронула сайты CHE, BOX1PCCNS, CCA-1 и VOZ-2. У потомства T1 не было существенной разницы во времени созревания между двумя аллелями и гетерозиготными растениями. Эти данные указывают на то, что гены PPD-1 могут находиться под регуляторным контролем, опосредованным множеством транскрипционных факторов.

Данное исследование было поддержано грантом РФФИ No21-76-30003.

**Ключевые слова:** геномное редактирование, CRISPR/Cas9, фотопериод, время колошение, экспрессия генов

## CAS9-INDUCED MUTATIONS IN THE PROMOTER OF PPD-1 GENES AFFECT THE DAILY PATTERN OF EXPRESSION OF THESE GENES AND THE HEADING TIME IN T. AESTIVUM L.

Berezhnaya A. A. <sup>\*1</sup>, Kiseleva A. A.<sup>1,2</sup>, Salina E. A.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>The Federal State Budgetary Institution of Science Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (ICG SB RAS), Novosibirsk, Russia

<sup>2</sup>Kurchatov Genomic Center, Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia  
[BerezhnayaAA@bionet.nsc.ru](mailto:BerezhnayaAA@bionet.nsc.ru)

The heading time of cultivated plants is one of the main factors determining their adaptability to the environment, which, in turn, affects crop yields. The transition to the reproductive phase is largely regulated by photoperiod sensitivity. In wheat, the photoperiod sensitivity is controlled by the *PPD-1* genes. Non-wild-type alleles of *PPD-1* are known to have an altered expression, leading to elevated transcription throughout the day and accelerated heading. It was assumed that a range of transcription factor binding sites (CHE, BOXIIPCCHS, CCA-1, VOZ-2, LHY) located within the *PPD-1* promoter regulate the gene expression. At the Kurchatov Genomic Center of ICG SB RAS we used the CRISPR/Cas9 genome editing to obtain a collection of plants with mutations in the promoter region of the *PPD-1* genes. The mutant plant collection was utilized to uncover the function of the transcription factor binding sites found within the *PPD-1* promoter.

Of the 1470 embryos that underwent biolistic bombardment, 193 regenerants were obtained. Mutation screening was performed by PCR with specific primers to the promoter regions of *thPpd-B1* and *Ppd-D1* genes. Precise evaluation of the obtained mutations was carried out using Sanger and NGS sequencing. The presence of the transgene was determined by amplifying fragments of sgRNA and BAR gene. Of the 142 plants analyzed, 54 (38%) carried mutations at least in one target gene (*Ppd-B1* and/or *Ppd-D1*). Most mutations in the promoter were deletions; the length varied from single nucleotide deletions to hundreds of nucleotides. Mutant genotypes were obtained in a heterozygous, bi-, and homozygous state. The majority of the T0 mutants were heterozygous. A total of 18 T0 plants with mutations were transgene-free.

The expression of the *Ppd-B1* and *Ppd-D1* genes was studied in T0 and T1 plants using real-time PCR. It was shown that the circadian rhythm of expression of wild-type genes is disrupted in mutants with both deletions and insertions. In wild-type control plants, the *PPD-1* genes are active during the day and inactive at night, whereas in the edited plants, these genes are constantly active throughout the day.

The T1 generation of edited wheat was planted in a glasshouse in long daylight conditions, and the phenotype was evaluated (the first node and the time of heading). There were T1 plants harboring longer deletions, which eliminated CHE, BOXIIPCCHS, CCA-1, VOZ-2 binding sites. These large deletions (approximately 200 nucleotides) in the promoter of *thPpd-D1* gene led to an acceleration in heading time for 3–5 days ( $p < 0.001$ ). Short deletions in the promoter regions *PPoDf-1* genes, which affected only one binding site, were also associated with an earlier heading. For instance, one of the T0 plants harbored biallelic mutations in the *Ppd-D1* gene with 276-bp and 42-bp deletions. The shorter deletion only affected the BOXIIPCCHS site, while the longer deletion covers CHE, BOXIIPCCHS, CCA-1, and VOZ-2 sites. In the T1 progeny there was no significant difference in heading time between the two alleles and heterozygous plants. These findings indicate that *thPePD-1* genes may be under regulatory control mediated by multiple transcription factors.

Funding: The reported study was funded by the RSF (Russian Science Foundation) project No21-76-30003.

Keywords: genome editing, CRISPR/Cas9, *PPD-1*, photoperiod, heading time, gene expression, wheat

## МЕТАБОЛОМНЫЙ АНАЛИЗ РАСТЕНИЙ *ACHILLEA MILLEFOLIUM*, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ ЗОНЕ ОТЧУЖДЕНИЯ

Битаршвили С. В.<sup>1</sup>, Волкова П. Ю.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии  
национального исследовательского центра "Курчатовский институт", Обнинск, Россия

<sup>2</sup> Independent Researcher, Geel, Belgium  
[bitarishvili.s@gmail.com](mailto:bitarishvili.s@gmail.com)

Радионуклидное загрязнение окружающей среды вследствие техногенных аварии может иметь негативные экологические последствия для биоты из-за масштабов загрязнения и длительного периода полурас радионуклидов. Чернобыльская зона отчуждения – регион, сильно пострадавший от аварии 1986 года, стал естественной лабораторией для изучения воздействия хронического низкодозового облучения биологических систем.

Чтобы справиться с повышенными уровнями радиации, растения используют сложные адаптивные стратегии, включая изменения в сигнальных путях и метаболических процессах. В рамках комплексного исследования ответных реакций травянистых растений на ионизирующее облучение и для выявления биохимических детерминант адаптации к долгосрочному хроническому облучению был выполнен метаболомный анализ листьев тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium* L.), произрастающего в Чернобыльской зоне отчуждения.

Пробоотбор был проведен в июне 2021 года на территории Полесского государственного радиационного экологического заповедника в Гомельской области Республики Беларусь, в 30-километровой зоне отчуждения. Листья отбирали с двух контрольных участков Ломыш и Бабчин с фоновым уровнем радиации и трех загрязненных – Масаны, Кулажин и Радин, характеризующимися высокими уровнями радиоактивного загрязнения (3-7 мкЗв/ч). Сразу после отбора растения фиксировали в жидком азоте и впоследствии лиофилизировали. Метаболомный анализ был проведен

при помощи метода газовой хроматографии-масс-спектрометрии (ГХ-МС) на приборе Agilent 7890A с м спектрометрическим модулем Agilent 5975C. Разделение осуществлялось на капиллярной колонке Rxi-5SilMS, Restek. Обработка данных ГХ-МС анализа проведена с помощью программы AMDIS 32, статистическая обработка визуализация данных с помощью платформы Metaboanalyst 6.0.

В результате ГХ-МС анализа было получено около 750 соединений. С помощью подходов мультивариантной статистики и иерархической кластеризации показана варибельность метаболитных профилей в образцах *A. millefolium*. В результате анализа метаболических путей показаны изменения в метаболизме протеиногенных аминокислот, таких как аргинин, глицин, серин, треонин и пролин. Были выявлены ключевые метаболиты, связанные с мобилизацией азотного обмена, ответом клеточной стенки на повреждения, эффективностью фотосинтеза и стрессовыми реакциями, которые, как предполагается, вовлечены в ответ *A. millefolium* на хроническое радиационное воздействие. Полученные результаты вносят вклад в понимание механизмов адаптации растений к длительным антропогенным воздействиям и обоснованию новых принципов экологического регулирования.

Исследование проведено при поддержке гранта Российского научного фонда No 20-74-10004 «Адаптивные реакции травянистых растений на ионизирующее излучение: в поиске кандидатных молекул устойчивости абиотическим стрессорам».

## METABOLOMIC ANALYSIS OF ACHILLEA MILLEFOLIUM GROWING IN THE CHERNOBYL EXCLUSION ZONE

S. Bitarishvili<sup>1</sup>, P. Volkova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Russian Institute of Radiology and Agroecology of National Research Centre «Kurchatov Institute», Obninsk, Russia*

<sup>2</sup>*Independent Researcher, Geel, Belgium  
e-mail [bitarishvili.s@gmail.com](mailto:bitarishvili.s@gmail.com)*

Radioactive contamination of the environment due to technological accidents can have negative ecological consequences for biota due to the scale of pollution and the long half-lives of radionuclides. The Chernobyl Exclusion Zone, a region heavily affected by the 1986 accident, has become a natural laboratory for studying the effects of chronic low-dose radiation on biological systems. To cope with elevated radiation levels, plants employ complex adaptive strategies, including changes in signaling pathways and metabolic processes. As part of a comprehensive study on the responses of herbaceous plants to ionizing radiation and to identify the biochemical determinants of adaptation to long-term chronic exposure, a metabolomic analysis of the leaves of common yarrow (*Achillea millefolium* L.) growing in the Chernobyl Exclusion Zone was conducted.

Sampling was conducted in June 2021 in the territory of the Polesie State Radiation and Ecological Reserve in the Gomel Region of the Republic of Belarus, within the 30-kilometer exclusion zone. Leaves were collected from two control plots, Lomish and Babchin, which had background radiation levels, and from three contaminated plots—Masany, Kulazhin, and Radin—characterized by high levels of radioactive contamination (3-7  $\mu\text{Sv/h}$ ). Immediately after sampling, the plants were frozen in liquid nitrogen and subsequently freeze-dried. Metabolomic analysis was performed using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) on an Agilent 7890A with an Agilent 5975C mass spectrometric module. Separation was carried out on an Rxi-5SilMS capillary column from Restek. Data processing of the GC-MS analysis was conducted using the AMDIS 32 software, and statistical processing and visualization of the data were performed using the Metaboanalyst 6.0.

As a result of the GC-MS analysis, approximately 750 compounds were identified. Using multivariate statistical approaches and hierarchical clustering, the variability of metabolite profiles in *A. millefolium* samples was demonstrated. The analysis of metabolic pathways revealed changes in the metabolism of proteinogenic amino acids such as arginine, glycine, serine, threonine, and proline. Key metabolites related to nitrogen mobilization, cell wall response to damage, photosynthesis efficiency, and stress reactions were identified, which are believed to be involved in *A. millefolium*'s response to chronic radiation exposure. The findings contribute to the understanding of the mechanisms of plant adaptation to prolonged anthropogenic impacts and provide a basis for new principles of ecological regulation.

This research was funded by the Russian Science Foundation, grant number 20-74-10004 "Adaptive responses of herbaceous plants to ionizing radiation: in search of candidate molecules for resistance to abiotic stressors".

**БИОКОЛЛЕКЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ В КУЛЬТУРЕ IN VITRO****Бохан А. И. , Савин П. С. , Мясникова С. Б.**

*ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений", Москва  
[alexboxan1980@mail.ru](mailto:alexboxan1980@mail.ru)*

Основным направлением исследований, проводимых в лаборатории биотехнологии ФГБНУ ВИЛАР, является сохранение, пополнение и паспортизация штаммов клеточных культур лекарственных растений.

Актуальность изучения данного вопроса определяется тем, что клеточные культуры лекарственных растений создают резервный фонд получения биологически активных веществ, специфичных для интактных растений и, возможно, новых БАВ, обладающих фармацевтической активностью. Также, клеточные штаммы могут бы использованы для проведения селекционных работ с использованием высокоэффективных технологий для получения высокопродуктивных растений.

Цель работы: сохранить морфофизиологические и биосинтетические характеристики коллекционных клеточных штаммов лекарственных растений (9 видов лекарственных растений).

Поддержание коллекционных штаммов лекарственных растений проводили с помощью метода периодического культивирования в виде суспензионной культуры в колбах вместимостью 500 мл и в виде каллуса на агаре в пробирках и чашках Петри. Работы проводили в стерильных условиях с использованием боксов-ламинаров.

Лаборатория биотехнологии поддерживает в жизнеспособном состоянии 16 клеточных штаммов и линий 9 видов лекарственных растений. На жидкой питательной среде поддержаны и сохранены следующие объекты: стефания гладкая (2 штамма), подофилл щитовидный (3 штамма), василистник малый (1 штамм), маклейя сердцевидная (штамм М-2:09/11ВИЛАР), женьшень обыкновенный (1штамм), родиола розовая (1 штамм). На агаризованной среде поддержаны и сохранены штаммы: макротомия красящая (1 штамм), подофилл щитовидный (3штамма), унгерния Виктора (1 штамм), женьшень обыкновенный (2 штамма), маклейя сердцевидная (2 штамма: М-2:09/11ВИЛАР, МЛ-3-99 ВИЛАР), родиола розовая (1 штамм) и копеечник альпийский (2 штамма).

В результате проведенной научно-исследовательской работы в 2022-2024 гг. была поддержана и сохранена коллекция клеточных культур, состоящая из 16 клеточных штаммов 9 видов лекарственных растений.

Работа выполнена в рамках темы НИР «Формирование, сохранение и изучение биокolleкций генофонд различного направления с целью сохранения биоразнообразия и использования их в технологиях здоровьесбережения» (No FGUU-2022-0014). Исследования проводились в рамках работ с биообъектами уникальной научной установки «Биокolleкции ФГБНУ ВИЛАР».

*Ключевые слова:* культура клеток, штамм, биокolleкция, лекарственные растения.

## BIO COLLECTION OF MEDICINAL PLANTS IN IN VITRO CULTURE

Bokhan A. I. , Savin P. S. , Myasnikova S. B.

*All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow*  
[alexboxan1980@mail.ru](mailto:alexboxan1980@mail.ru)

The main area of research conducted in the Laboratory of Biotechnology of the All-Russian scientific research institute of medicinal and aromatic plants is the preservation, replenishment and certification of strains of cell cultures of medicinal plants.

The relevance of studying this issue is determined by the fact that cell cultures of medicinal plants create a reserve fund for the production of biologically active substances specific to intact plants, and possibly new BAS with pharmaceutical activity. Also, cell strains can be used in breeding works using highly efficient technologies to produce highly productive plants.

The aim of the work is to preserve the morphophysiological and biosynthetic characteristics of collection strains of medicinal plant cells (9 species of medicinal plants).

The collection strains of medicinal plants were maintained by periodic cultivation in the form of a suspension culture in flasks with a capacity of 500 ml and in the form of callus on agar in test tubes and Petri dishes. The work was carried out in sterile conditions using laminar flow boxes.

The biotechnological laboratory supports the viability of 16 cell strains and lines of 9 species of medicinal plants. The following objects were contained and preserved on a liquid nutrient medium: stefania smooth (2 strains), podophyll thyroid (3 strains), basilisk small (1 strain), maclea cordata (strain M-2:09/11 per year), ordinary ginseng (1 strain), rhodiola rosea (1 strain).. The following strains were contained and preserved on an agarized medium: macrotomy coloring (1 strain), thyroid podophyll (3 strains), Victor's ungeria (1 strain), ordinary ginseng (2 strains), Maclay cordate (2 strains: M-2:09/11VILAR, ML-3-99 VILAR), Rhodiola rosea (grade 1) and kopeck alpine (grade 2).

As a result of the research work carried out in 2022-2024, a collection of cell cultures consisting of 16 cell strains of 9 species of medicinal plants was collected and preserved.

The work was carried out within the framework of the research topic "Formation, conservation and study of biocollections of the gene pool of various directions in order to preserve biodiversity and use them in health-saving technologies" (No. FGUU- 2022-0014). The research was conducted as part of the work with biological objects of the unique scientific installation "Biocollection of FSBI "VILAR".

*Keywords:* cell culture, strain, biocollection, medicinal plants.



**КЛЕТОЧНАЯ КУЛЬТУРА КОПЕЕЧНИКА АЛЬПИЙСКОГО (*HEDYSARUM ALPINUM* L.) В УСЛОВИЯХ IN VITRO****Бохан А. И. , Савин П. С.**

*ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений", Москва*  
[alexboxan1980@mail.ru](mailto:alexboxan1980@mail.ru)

Представляют интерес вторичные метаболиты – изофлавоны, которые обнаружены у большинства представителей семейства Бобовые. В корнях растений в *Hedysarum polybotrys* и *Hedysarum kirghisorum* обнаружены формонетин и ононин. Изофлавоновый гликозид ононин способствует кратковременному снижению артериального давления, усилению диуреза, снижению хрупкости капилляров, обладает кровоостанавливающим действием, не влияя при этом на свертываемость крови.

Цель исследований – разработать процесс непрерывного культивирования клеток копеечника альпийского в сосудах большего объема (ферментерах) и изучить состав и содержание изофлавоноидов.

Работы проводились в стерильных условиях с использованием боксов-ламинаров. Для культивирования суспензионной культуры использовали отработанную ранее питательную среду по прописи Мурасиге и Скуга с добавлением витаминов, регуляторов роста, 5 % сахарозы.

В результате проведенных экспериментов была получена клеточная линия из семядоли проростка растения копеечника альпийского, промаркированная как штамм *Hedysarum alpinum* (С) 2016.

Исследование, проведенное на жидкостном хроматографе Prominence –I (с детектором PDA LC – 2030 C 3D) Shimadzu (Япония), позволило идентифицировать обнаруженное вещество как изофлавоновый гликозид ононин – 7-О- ( $\beta$ -glucopyranosyloxy)-4 methoxyisoflavone.

В результате проведенных экспериментов была получена клеточная линия из семядоли проростка растения копеечника альпийского, промаркированная как штамм *Hedysarum alpinum* (С) 2016. В культуре клеток копеечника альпийского *Hedysarum alpinum* было обнаружено вещество, идентифицированное как изофлавоновый гликозид ононин – 7-О- ( $\beta$ -glucopyranosyloxy)-4 methoxyisoflavone.

Работа выполнена в рамках темы НИР «Формирование, сохранение и изучение биокolleкций генофонд различного направления с целью сохранения биоразнообразия и использования их в технологиях здоровьесбережения» (No FGUU-2022-0014). Исследования проводились в рамках работ с биообъектами уникальной научной установки «Биокolleкции ФГБНУ ВИЛАР».

*Ключевые слова:* копеечник альпийский, клеточная культура, штамм, ферментер, лекарственные растения.

CELL CULTURE *HEDYSARUM ALPINUM* L. IN VITRO CONDITIONS

Bokhan A. I. , Savin P. S.

*All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow*  
[alexboxan1980@mail.ru](mailto:alexboxan1980@mail.ru)

Of interest are secondary metabolites – isoflavones, which are found in most representatives of the Legume family. Formonetin and ononin have been found in the roots of *Hedysarum polybotrys* and *Hedysarum kirghisorum* plant species. Isoflavone glycoside ononin contributes to a short-term decrease in blood pressure, increased diuresis, reduced fragility of capillaries, has a hemostatic effect, without affecting blood clotting.

The aim of the research is to develop a process of continuous cultivation of *Hedysarum alpinum* L. cells. in larger vessels (fermenters) and to study the composition and content of isoflavonoids.

The work was carried out in sterile conditions using laminar flow boxes. To cultivate the suspension culture, a previously used nutrient medium was used according to Murashige and Skuga recipes with the addition of vitamins, growth regulators, and 5% sucrose.

As a result of the experiments carried out, a cell line was obtained from the cotyledon of the seedling of the Alpine penny plant, labeled as the strain *Hedysarum alpinum* (C) 2016.

A study conducted on a Prominence –I liquid chromatograph (with a PDA LC – 2030 C 3D detector) by Shimadzu (Japan) made it possible to identify the detected substance as isoflavone glycoside ononin – 7-O-( $\beta$ -glucopyranosyloxy) methoxyisoflavone.

As a result of the experiments, a cell line was obtained from the cotyledon of the seedling of the *Hedysarum alpinum* L. plant, labeled as the *Hedysarum alpinum* strain (C) 2016. A substance identified as the isoflavone glycoside ononin– 7-O-( $\beta$ - glucopyranosyloxy)-4 methoxyisoflavone was found in the culture of Alpine *Hedysarum alpinum kopechnum* cells.

The work was carried out within the framework of the research topic "Formation, conservation and study of gene pool biocollections of various directions in order to preserve biodiversity and use them in health-saving technologies" (No. FGUU- 2022-0014). The research was carried out within the framework of work with biological objects of the unique scientific installation "Biocollection of FSBI VILAR".

*Keywords: Hedysarum alpinum* L., cell culture, strain, fermenter, medicinal plants.

## ВЫЯВЛЕНИЕ РЕГУЛЯТОРНЫХ ГЕНОВ ДЛЯ МАРКЁР-ОПОСРЕДОВАННОЙ СЕЛЕКЦИИ РЖИ *SECALE CEREALE* L. НА ВЫСОКОЕ СОДЕРЖАНИЕ АНТОЦИАНОВ В ЗЕРНОВКЕ

Буланов А. Н.<sup>1,2</sup>, Андреева Е. А.<sup>1,2</sup>, Зыкин П. А.<sup>2</sup>, Цветкова Н. В.<sup>2</sup>,  
Войлоков А. В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН, Санкт-Петербургский филиал*

<sup>2</sup> *Санкт-Петербургский государственный университет*

[an.bulanov20002014@gmail.com](mailto:an.bulanov20002014@gmail.com)

Антоцианы являются нефотосинтетическими пигментами растений, выполняющими множество важных функций в первую очередь связанных с физиологическим ответом на неблагоприятные условия среды. Во множестве работ обсуждаются полезные для здоровья человека свойства антоцианов, прежде всего их высокая антиоксидантная активность. Имеются данные, свидетельствующие о том, что регулярное употребление антоцианов в пищу способно снижать риск развития многих заболеваний. В связи с этим в последние годы большое внимание приковано к селекции форм злаков, обогащённых антоцианами. Петергофская генетическая коллекция ржи включает десятки разнообразных форм, различающихся по антоциановой пигментации. В том числе поддерживаются инбредные линии, несущие рецессивные мутации генов, контролирующих биосинтез антоцианов, а также линии, фиксированные по доминантным мутациям, детерминирующим фиолетовую или зелёную пигментацию зерновки. В связи с этим коллекция представляет уникальную возможность для изучения генетического контроля биосинтеза антоцианов, а также может служить источником генов для селекции ржи на высокое содержание антоцианов и родственных им соединений.

Особое внимание при такой селекции уделяется регуляторным генам биосинтеза, транскрипционные факторы MYB и bHLH-MYC, формирующие с белками WD40 так называемый MBW-комплекс, который определяет пространственную, временную и биохимическую специфичность накопления антоцианов. К сожалению, особенности регуляции биосинтеза антоцианов у ржи изучены недостаточно. Для установления модели регуляции биосинтеза антоцианов у ржи, на основании оригинальных и литературных данных, нами был про биоинформатический анализ, позволивший обнаружить потенциальные позитивные регуляторы антоциановой пигментации. WD40-ген *PAC1*, вероятно, является универсальным регулятором биосинтеза антоцианов во всех тканях и органах ржи. MYB-ген *Mrc1-7R* и MYC-ген *Muc-7R1* входят вместе с геном ключевого фермента синтеза дельфинидина F3'5'H в состав трёхгенного кластера в хромосоме 7RS, определяющего у других видов Пшеницевых признак голубозёрности. Мы предполагаем, что гены данного кластера у ржи определяют признак серо-зелёной окраски зерновки, связанной с накоплением производных дельфинидина в алейроне. Ген *Mrc1-4R* в хромосоме 4RL, предположительно, является основным MYB-геном, определяющим биосинтез красно-фиолетовых антоцианов в вегетативных органах и перикарпе. Комплементарный ему MYC-ген *Muc-2R* в хромосоме 2RL, соответствует гену *Violet seed (Vs)*, контролирующему у ржи фиолетовую окраску перикарпа. Мы провели секвенирование двух доминантных и трёх рецессивных аллелей гена *Vs*, фиксированных у инбредных линий Петергофской генетической коллекции. Было обнаружено, что отсутствие антоцианов в перикарпе у трёх линий связано с инсерцией *Mutator*-транспозона в промоторную область данного гена. На основании изученных последовательностей был разработан функциональный CAPS-маркёр гена *Vs*. В настоящее время проводится изучение аллельного разнообразия и функ идентифицированных MBW-генов ржи, а также разрабатываются маркёры для их эффективного использования в генетике и селекции ржи.

Работа поддержана Министерством науки и высшего образования РФ в соответствии с соглашением No 075-15-2022-322 от 22.04.2022 о предоставлении гранта в виде субсидии из федерального бюджета РФ.

IDENTIFICATION OF REGULATORY GENES FOR MARKER-ASSISTED BREEDING OF RYE (*SECALE CEREALE* L.) WITH HIGH ANTHOCYANIN CONTENT IN THE GRAINBulanov A. N.<sup>1,2</sup>, Andreeva E. A.<sup>1,2</sup>, Zykin P. A.<sup>2</sup>, Tsvetkova N. V.<sup>2</sup>, Voylokov A. V.<sup>1</sup><sup>1</sup> Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Science, Saint Petersburg branch<sup>2</sup> Saint Petersburg State University[an.bulanov20002014@gmail.com](mailto:an.bulanov20002014@gmail.com)

Anthocyanins are non-photosynthetic plant pigments that perform a variety of important functions, primarily related to the physiological response to environmental stressors. Numerous studies discuss the health benefits of anthocyanins particularly their high antioxidant activity. Multiple lines of evidence indicate that regular dietary intake of anthocyanins can reduce the risk of many diseases. Hence, in recent years, considerable attention has been focused on breeding cereal crops enriched with anthocyanins. The Peterhof Genetic Collection of Rye comprises dozens of diverse forms with varying levels of anthocyanin pigmentation. These forms include inbred lines with recessive mutations in genes controlling anthocyanin biosynthesis, as well as lines with dominant mutations that determine purple or green grain pigmentation. Therefore, the Collection provides a unique opportunity to study the genetic control of anthocyanin biosynthesis and serves as a potential source of genes for breeding rye varieties with high content of anthocyanins and related compounds.

Particular attention in such breeding is given to the regulatory genes of anthocyanin biosynthesis. These genes encode MYB and bHLH-MYC transcription factors that, together with WD40 proteins, form the so-called MBW complex. This complex determines the spatial, temporal, and biochemical specificity of anthocyanin accumulation. Unfortunately, the regulation of anthocyanin biosynthesis in rye is still poorly understood. To establish a model for the regulation of anthocyanin biosynthesis in rye, we conducted a bioinformatic analysis based on original and literature data that revealed potential positive regulators of anthocyanin pigmentation. The WD40 gene *PAC1* is highly likely to be a universal regulator of anthocyanin biosynthesis across all tissues and organs of rye. The MYB gene *Mpc1-7R* and the MYC gene *Myc-7R1*, along with the gene encoding the key enzyme for delphinidin synthesis, F3'5'H, are located within a trigenic cluster on chromosome 7RS. In other Triticeae species orthologous trigenic cluster controls the trait of blue grain color. We assume that this trigenic cluster in rye determines the trait of gray-green grain coloration, associated with the accumulation of delphinidin derivatives in the aleurone layer. The *Mpc1-4R* gene on chromosome 4RL is presumably the primary MYB gene responsible for the biosynthesis of red-purple anthocyanins in vegetative organs and the pericarp. Its complementary MYC gene, *Myc-2R* on chromosome 2RL, corresponds to the *Violet seed (Vs)* gene, which determines purple pericarp coloration in rye. We sequenced two dominant and three recessive alleles of the *Vs* gene fixed in the inbred lines of the Peterhof Genetic Collection. It was found that the absence of anthocyanins in the pericarp of three lines is associated with the insertion of a *Mutator* transposon into the promoter region of this gene. Based on the studied sequences, a functional CAPS marker for the *Vs* gene was developed. Ongoing research is investigating the allelic diversity and functional roles of the identified MBW genes in rye. Meanwhile, molecular markers for these genes are being developed for their effective application in rye genetics and breeding.

This work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation in accordance with Agreement No. 075-15-2022-322 dated 22.04.2022 for the provision of a grant in the form of a subsidy from the federal budget of the Russian Federation.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КЛАССИЧЕСКИХ И СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ В СЕЛЕКЦИИ ГИБРИДОВ СОРГО НА ОСНОВЕ РАЗНЫХ ТИПОВ ЦМС

Бычкова В. В.<sup>1</sup>, Кибальник О. П.<sup>1</sup>, Эльконин Л. А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Российский научно-исследовательский и проектно-технологический институт сорго и кукурузы»

<sup>2</sup>ФАНЦ Юго-Востока  
[bychkova\\_vv@list.ru](mailto:bychkova_vv@list.ru)

Для успешной селекции гибридов F1 сорго важно изучить изменчивость основных агрономических признаков у материнских форм с цитоплазматической мужской стерильностью (ЦМС) под действием стрессовых условий. Параллельно исследователи ищут и идентифицируют новые типы ЦМС-индуцирующих цитоплазм для расширения генетического разнообразия гибридов. Комплексное изучение особенностей материнских форм с ЦМС в стрессовых условиях и поиск новых типов ЦМС-цитоплазм - ключевые направления исследований для успешной селекции высокоурожайных гибридов сорго.

Использование одного типа стерильной цитоплазмы повышает уязвимость культуры к стрессам, которые могут воздействовать именно на эту систему ЦМС, что может привести к прекращению производства гибридов. Изучение влияния цитоплазмы на комбинационную способность ЦМС-линий представляет значительный интерес в плане понимания генетических функций цитоплазмы у растений и в практических целях для создания гибридов улучшенными хозяйственно-ценными признаками. Ранее нами было установлено влияние типа цитоплазмы на параметры листа, фотосинтетическую площадь листа, чистую продуктивность фотосинтеза, синтез пигментов листа, продуктивность биомассы и зерна у гибридов F1 сорго. В связи с этим нами было выявлено, что проявление цитоплазматических эффектов у сорго зависит от гидротермического режима выращивания растений, при этом было установлено, что цитоплазма 9E повышала устойчивость гибридов F1 к стрессу засухи, в то время как в условиях более влажного сезона гибриды на основе цитоплазмы A3 имели более высокие показатели чистой продуктивности фотосинтеза (фаза «кущение-выметывание») и урожайности биомассы.

Последующие исследования позволили определить цитоплазматический эффект на общую комбинационную способность изоядерных ЦМС-линий A3, A4, 9E Желтозерное 10 в скрещиваниях с образцами зернового (всего 18) и сахарного (всего 13) сорго. Так, цитоплазма 9E повышала эффекты ОКС по интенсивности начального роста, длине соцветия и урожайности биомассы в гибридизации с образцами зернового сорго, а с образцами сахарного сорго – по длине соцветия, площади наибольшего листа, протеина в биомассе (каждый сезон) и жира (в засушливый сезон).

Следует отметить, что восстановители цитоплазм A3, A4, 9E встречаются реже по сравнению с цитоплазмами A1 и A2. Поэтому для ускорения селекции гетерозисных гибридов с восстановленной мужской фертильностью необходима идентификация генов-восстановителей с помощью ПЦР-анализа с использованием SSR-маркеров. Проведенная диагностика образцов сахарного и зернового сорго, включенных в скрещивания в качестве отцовских форм, позволила выявить 2 восстановителя фертильности цитоплазмы 9E и 7 образцов, закрепляющих стерильность данного типа ЦМС.

Таким образом, применение сведений о роли цитоплазматических эффектов в проявлении комбинационной способности ЦМС-линий сорго по селекционным признакам позволят более эффективно применять разнообразие типов стерильности в практической селекции, а использование молекулярных маркеров ускорит селекционный процесс по созданию гетерозисных гибридов с восстановленной мужской фертильностью.

*Ключевые слова:* сорго, гибрид, цитоплазматическая мужская стерильность, комбинационная способность, мужская фертильность, молекулярные маркеры.

## USE OF CLASSICAL AND MODERN METHODS IN BREEDING SORGHUM HYBRIDS BASED ON DIFFERENT TYPES OF CMS

Bychkova V. V.<sup>1</sup>, Kibalnik O. P.<sup>1</sup>, Elkonin L. A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Russian Research, Design and Technology Institute of Sorghum and Corn Federal State Government-Funded Scientific Institution*

<sup>2</sup>*FCAR South- East Region  
[bychkova\\_vv@list.ru](mailto:bychkova_vv@list.ru)*

For successful selection of F1 sorghum hybrids, it is important to study the variability of the main agronomic traits in maternal forms with cytoplasmic male sterility (CMS) under stress conditions. In parallel, researchers are searching for and identifying new types of CMS-inducing cytoplasm to expand the genetic diversity of hybrids. A comprehensive study of the characteristics of maternal forms with CMS under stress conditions and the search for new types of CMS cytoplasm are key areas of research for the successful selection of high-yielding sorghum hybrids.

The use of one type of sterile cytoplasm increases the vulnerability of the crop to stresses that can affect this particular CMS system, which can lead to the cessation of hybrid production. The study of the effect of cytoplasm on the combining ability of CMS lines is of considerable interest in terms of understanding the genetic functions of the cytoplasm in plants and for practical purposes for creating hybrids with improved economically valuable traits. Previously, we established the influence of the cytoplasm type on leaf parameters, photosynthetic leaf area, net productivity of photosynthesis, synthesis of leaf pigments, biomass and grain productivity in F1 sorghum hybrids. In this regard, we found that the manifestation of cytoplasmic effects in sorghum depends on the hydrothermal regime of plant cultivation, while it was found that the 9E cytoplasm increased the resistance of F1 hybrids to drought stress, while in the conditions of a wetter season, hybrids based on the A3 cytoplasm had higher net productivity of photosynthesis (tillering-heading phase) and biomass yield.

Subsequent studies made it possible to determine the cytoplasmic effect on the general combining ability of isonuclear CMS lines A3, A4, 9E Zheltozernoye 10 in crosses with samples of grain (18 in total) and sugar (13 in total) sorghum. Thus, the 9E cytoplasm increased the effects of OKS on the intensity of initial growth, inflorescence length and biomass yield in hybridization with grain sorghum samples, and with sugar sorghum samples - on the length of the inflorescence, the area of the largest leaf, protein in the biomass (each season) and fat (in the dry season). It should be noted that the restorers of the A3, A4, 9E cytoplasm are less common compared to the A1 and A2 cytoplasm. Therefore, to accelerate the selection of heterotic hybrids with restored male fertility, it is necessary to identify the restorer genes using PCR analysis with SSR markers. The diagnostics of the sugar and grain sorghum samples included in the crosses as paternal forms made it possible to identify 2 restorers of fertility of the 9E cytoplasm and 7 samples that fix the sterility of this type of CMS.

Thus, the use of information on the role of cytoplasmic effects in the manifestation of the combining ability of CMS sorghum lines for selection traits will allow more effective use of a variety of sterility types in practical selection, and the use of molecular markers will accelerate the selection process for creating heterotic hybrids with restored male fertility.

**Keywords:** sorghum, hybrid, cytoplasmic male sterility, combining ability, male fertility, molecular markers.

## НАПИТКИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО НАЗНАЧЕНИЯ НА ОСНОВЕ ЗООГЛЕИ

Воронина М. С. , Игнатова Д. Ф. , Рамазанов Р. Б.

ФГБОУ ВО Самарский государственный технический университет  
[marianna419@rambler.ru](mailto:marianna419@rambler.ru)

Напитки на основе зооглеи – напитки, приготовленные из ферментированного зеленого или черного чая, обычно употребляется в качестве функционального продукта питания. Напиток на основе зооглеи становится все более доступными во многих местах. В процессе ферментации участвует ряд микроорганизмов, в том числе разнообразные дрожжи и бактерии, в результате чего пробиотический напиток получается слегка шипучим с легким кислым привкусом. Известно о ряде полезных свойств напитка на основе зооглеи для здоровья, хотя исследований мало.

Отсутствие научно обоснованных режимов и технологий получения напитков из зооглеи существенно осложняет вовлечение данного продукта в промышленную переработку.

Таким образом, разработка современных и высокоэффективных биотехнологических способов производства напитков из зооглеи стабильного качества при хранении является актуальным направлением исследований, имеющим объективные предпосылки для промышленного внедрения наукоемких технологий переработки этой культуры на профильных предприятиях, нуждающихся в диверсификации производственных мощностей в связи с изменением спроса на продукты питания/напитки.

На основании имеющегося опыта исследований химического состава и антиоксидантной активности массива растительного сырья выбраны следующие методы решения поставленных задач:

1. в качестве экспериментальных методов исследований для изучения уровня содержания фенол флавоноидов, антоцианов в растительном сырье Самарской области предполагается использовать спектрофотометрические методы;

2. в качестве экспериментальных исследований антиоксидантной активности предполагается использовать изучение антирадикальной активности растительного сырья Самарской области по ингибированию действия свободных радикалов (метод с 2,2-дифенил-1-пикрил-гидразилом (DPPH), определение восстанавливающей силы по методу FRAP).

Для обработки полученных данных по химическому составу и антирадикальной активности с целью выбора наиболее перспективного растительного сырья и технологии предполагается использовать критериальный подход.

Разработке рецептур новой продукции включает в себя несколько этапов:

1. анализ имеющихся аналогичных рецептур и технологии по нормативным материалам и другим источникам информации (обзоры, статьи, описание изобретения и др.);

2. определение сырьевого набора и на его основе составление рецептуры;

3. опытные проработки с целью уточнения рецептуры (по нормам расхода сырья – брутто и нетто), определение выхода изделия с учетом отходов и потерь в соответствии с действующими нормативами (Сборники технических нормативов и другая техническая документация).

Разработанный напиток на основе зооглеи содержит количественное содержание полифенольных соединений не менее 15 % от суточной потребности организма; витаминов не менее 10 % от суточной потребности организма, что позволяет считать данный напиток функциональным.

*Ключевые слова:* биотехнология, пробиотики, пребиотики, метабиотики, симбиотики, напитки, функциональные продукты питания и компоненты, ферментация.

## FUNCTIONAL DRINKS BASED ON ZOOGLEA

Voronina M. S. , Ignatova D. F. , Ramazanov R. B.

*FSBEI HE Samara State Technical University  
[marianna419@rambler.ru](mailto:marianna419@rambler.ru)*

Zoogley-based drinks - drinks made from fermented green or black tea are usually used as a functional food product. The zooglea-based drink is becoming increasingly available in many places. A number of microorganisms participate in the fermentation process, including a variety of yeast and bacteria, as a result of which the probiotic drink is slightly effervescent with a slight acidic taste. A number of health benefits of the zooglea-based drink are known, although there is little research.

The lack of scientifically substantiated regimes and technologies for obtaining drinks from zoogley significantly complicates the involvement of this product in industrial processing.

Thus, the development of modern and highly efficient biotechnological methods for the production of drinks from zoogley of stable quality during storage is an urgent area of research that has objective prerequisites for the industrial introduction of high-tech technologies for processing this culture at specialized enterprises that need to diversify production capacities due to changes in demand for food/drinks.

Based on the available experience in studying the chemical composition and antioxidant activity of the plant raw material array, the following methods were selected to solve the tasks:

1) spectrophotometric methods are supposed to be used as experimental research methods to study the level of phenols, flavonoids, anthocyanins in plant raw materials of the Samara region;

2) as experimental studies of antioxidant activity, it is supposed to use the study of the antiradical activity of plant raw materials of the Samara region to inhibit the action of free radicals (method with 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH), determination of the restoring force by the FRAP method).

To process the obtained data on chemical composition and antiradical activity in order to select the most promising plant raw materials and technology, it is supposed to use a criterion approach.

The development of recipes for new products includes several stages:

1) analysis of available similar formulations and technologies based on normative materials and other sources of information (reviews, articles, description of the invention, etc.);

2) determination of the raw material set and on its basis formulation;

3) experimental studies in order to clarify the recipe (according to the norms of consumption of raw materials - gross and net), determination of the product yield, taking into account waste and losses in accordance with the current standards (Collections of technical standards and other technical documentation).

Developed beverage based on zooglea contains quantitative content of polyphenolic compounds not less than 15% of daily body demand; vitamins of at least 10% of the daily requirement of the body, which allows us to consider this drink functional.

**Keywords:** biotechnology, probiotics, prebiotics, metabiotics, symbiotics, beverages, functional foods and components, fermentation.



## ПОЛУЧЕНИЕ УДВОЕННЫХ ГАПЛОИДОВ ПАСТЕРНАКА В КУЛЬТУРЕ МИКРОСПОР IN VITRO

Бюртц Т. С., Домблидес Е. А.

ФГБНУ Федеральный Научный Центр Овощеводства  
[tajtza@yandex.ru](mailto:tajtza@yandex.ru)

Пастернак посевной (*Pastinaca sativa* L.) – двулетнее перекрестноопыляемое растение относится к семейству Сельдерейные (*Ariaceae*). В первый год жизни образует корнеплод и прикорневую розетку листьев, во второй – цветоносные побеги и дает семена. Уникальной особенностью этой овощной культуры, отличающей ее от других представителей семейства, является ее уникальный биохимический состав, характеризующийся высоким содержанием аминокислот. Пастернак, в сравнении с другими корнеплодными культурами, отличается узким генетическим разнообразием и не большим количеством сортов (в Государственном реестре селекционных достижений, допущенных к использованию на 2023 год зарегистрировано 12 сортов). Для ускоренного создания гибридов необходимо применение современных биотехнологических методов, позволяющих использовать ресурс гаметоклональной изменчивости и получать чистые линии за одно поколение. Наиболее перспективным является использование технологии культивирования изолированных микроспор из-за отсутствия соматических тканей в культуре *in vitro*, большей эффективности и меньшей трудоемкости.

Исследования проводили на двух ценных селекционных образцах пастернака из коллекции лаборатории селекции и семеноводства столовых корнеплодов ФГБНУ ФНЦО.

Было отмечено, что развитие микроспор пастернака посевного происходит аналогично развитию микроспор моркови столовой. Для успешной индукции эмбриогенеза в культуре изолированных микроспор *in vitro* отбирали плотно закрытые бутоны из крайнего ряда зонтичков центрального соцветия, имеющего слабо вогнутую, либо почти плоскую форму и содержащих преимущественно микроспоры на поздней вакуолизированной стадии развития. Размер микроспор пастернака на этой стадии развития составляет 22-29 мкм в длину (в зависимости от генотипа, положения соцветия и условий выращивания донорного растения), в то время как у моркови столовой микроспоры на аналогичной стадии достигали 18 - 22 мкм.

Микроспоры культивировали на модифицированных питательных средах NLN-13 и MSm-13. Первые деления в культуре отмечали уже на 3 день культивирования в темноте при 25°C, а после 10-14 дней культивирования уже можно было наблюдать многоклеточные образования в пределах оболочки пыльцевого зерна. Эмбриониды достигал семядольной стадии развития к 45-50 дню культивирования.

Процесс регенерации растений из эмбрионидов пастернака посевного на регенерационной питательной среде с мостиками, разработанной для моркови (жидкая MSm с 0,1 кинетина). Этот процесс протекает на 2-3 недели дольше по сравнению с морковью. В процессе регенерации развивающиеся растеньица, в отличие от моркови столовой, необходимо переносить на свежую питательную среду каждые 14 дней, иначе происходит побурение их окраски и они погибают. Только из 40% эмбрионидов удалось регенерировать растения.

Полученные растения – регенеранты, адаптированные к условиям *ex vitro* были оценены на уровень плоидности с использованием проточной цитометрии клеточных ядер. В изученной выборке образцов присутствовали гаплоидные и диплоидные растения. Присутствие регенерантов с диплоидным набором хромосом свидетельствует о возможности процесса спонтанной диплоидизации при нахождении в культуре *in vitro* у части гаплоидных образцов, полученных из мужского гаметофита, а для гаплоидных растений регенерантов, необходимо разрабатывать этап технологии по индуцированному увеличению плоидности с использованием антимитотических веществ.

*Ключевые слова:* удвоенные гаплоиды, эмбриониды, культура микроспор.

## OBTAINING DOUBLED PARSNIP HAPLOIDS IN MICROSPORE CULTURE IN VITRO

Vjurtts T. , Domblides E. A.  
FSBSI Federal Scientific Vegetable Center  
[tajtza@yandex.ru](mailto:tajtza@yandex.ru)

Apiaceae family (Umbelliferae). During the first year of life, it forms a root and leaf rosette. During the second year, flower-bearing shoots are formed. A unique feature of this vegetable crop distinguishing it from other representatives of the family is its unique biochemical composition, characterized by a high content of amino acids. In comparison to other crops, parsnip is characterized by a narrow genetic diversity and limited number of varieties (12 varieties are registered in the Russian State Register of breeding achievements allowed for use in 2023). For accelerated hybrid breeding it is necessary to use modern biotechnological methods that allow using gametoclonal variability to obtain pure lines in one generation. The most promising approach is the isolated microspore cultivation technology due to the absence of somatic tissue *in vitro* culture, higher efficiency and lower labor intensity.

The research was conducted on two valuable parsnip breeding accessions from the collection of the laboratory of root crop breeding and seed production of FSBSI "Federal Scientific Vegetable Center".

It was observed that parsnip microsporogenesis is similar to carrot microspore development. For successful induction of embryogenesis in isolated microspore culture *in vitro*, tightly closed buds were selected from the outermost row of umbellet of the central inflorescence, having a slightly concave or almost flat shape and containing mainly microspores at the late vacuolated stage. The length of parsnip microspores at this stage of development is 22-29  $\mu\text{m}$  (depending on the genotype, inflorescence position, and growing conditions of the donor plant), while carrot microspores reached 18 – 22  $\mu\text{m}$  at a similar stage.

Microspores were cultured on modified nutrient media NLN-13 or MSm-13. The first divisions in the culture were observed on the 3rd day of cultivation at 25°C in the dark. After 10-14 days of cultivation multicellular formations within the pollen grain shell could be observed. Embryoids reached the cotyledon stage by 45-50 days of cultivation.

Parsnip embryoid development into plantlets occurred on filter paper bridges immersed in the liquid regeneration MSm medium with 0.1 mg/L kinetin. This process took 2-3 weeks longer compared to carrot.

Unlike carrots, developing parsnip plantlet should be transferred to fresh nutrient medium every 14 days to prevent their darkening and dying out. Only 40% of embryoids regenerated into plants.

The obtained regenerants adapted to *ex vitro* conditions were evaluated for ploidy level using flow cytometry. Haploid and diploid plants were detected. The presence of regenerants with diploid set of chromosomes indicates the possibility of partial spontaneous diploidization during *in vitro* culture. For haploid regenerant plants, it is necessary to develop a genome doubling protocol using antimitotic substances.

**Keywords:** doubled haploids, embryoids, microspore culture.

## ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РОЛЬ WRKY (TF) В ОТВЕТЕ РАСТЕНИЙ НА АБИОТИЧЕСКИЙ СТРЕСС

Гавриленко И.<sup>1</sup>, Малетич Г.<sup>1</sup>, Челомбит С.<sup>1</sup>, Водясова Е.<sup>1</sup>, Тимербаев В.<sup>2</sup>, Синченко А.<sup>1</sup>, Долгов С.<sup>2</sup>, Хватков П.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное Государственное Бюджетное Учреждение Науки «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад — Национальный научный центр РАН»

<sup>2</sup>Филиал Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А.

Овчинникова РАН

[igor.gavrilenko.95@bk.ru](mailto:igor.gavrilenko.95@bk.ru)

*Vitis vinifera* L. - важная экономическая плодовая культура в мире. На рост винограда часто влияют факторы окружающей среды, такие как засуха, засоление или холод, которые серьезно влияют на урожайность и качество винограда, и ограничивают развитие виноградной отрасли.

Анализ транскриптома показал, что большинство WRKY винограда реагируют на различные стрессоры. В последнее время во многих экспериментальных исследованиях сообщается, что WRKY участвуют в широком спектре реакций на абиотический стресс у растений. Недавно VvWRKY13 был охарактеризован как отрицательный медиатор солевого стресса как с помощью анализа сортов винограда с различной устойчивостью к солевому стрессу, так и с помощью трансгенного арабидопсиса с оверэкспрессией VvWRKY13. Однако все эти исследования транскрипционных факторов проводились на трансгенном арабидопсисе или табаке, то есть на модельных культурах. Для точной идентификации функций генов винограда необходимы исследования на базе не только модельных растений, но и на целевой культуре - *Vitis vinifera* L.

Целью исследований является изучение функциональной роли новых генов, регуляторных элементов физиолого-биохимических механизмов для повышения продуктивности и устойчивости винограда к стрессовым абиотическим факторам внешней среды (засухоустойчивость и устойчивость к засолению почвы), а также комплексный анализ получаемых форм на всех этапах исследований.

Это исследование финансировалось грантом Российского научного фонда No. 23-76-10013

**Ключевые слова:** WRKY (TF); Абиотические стрессы; виноград; генотип; маннитол; хлорофилл; пролин ; NaCl; Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; *in vitro*.

## FUNCTIONAL ROLE OF WRKY (TF) IN PLANT RESPONSE TO ABIOTIC STRESS

Gavrilenko I.<sup>1</sup>, Maletich G.<sup>1</sup>, Chelombit S.<sup>1</sup>, Vodyasova E.<sup>1</sup>, Timerbaev V.<sup>2</sup>, Sinchenko A.<sup>1</sup>, Dolgov S.<sup>2</sup>, Khvatkov P.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Federal State Funded Institution of Science "The Labor Red Banner Order Nikita Botanical Gardens – National Scientific Center of the RAS", 298648, Nikita, Yalta, Russia;

<sup>2</sup>Branch of Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, 142290, Puschino, Russia.  
[igor.gavrilenko.95@bk.ru](mailto:igor.gavrilenko.95@bk.ru)

*Vitis vinifera* L. - an important economic fruit crop in the world. The growth of grapes is often affected by environmental factors such as drought, salinity or cold, which seriously affect the yield and quality of grapes, and limit the development of the grape industry.

Transcriptome analysis showed that most grape WRKYs respond to a variety of stressors. Recently, many experimental studies have reported that WRKYs are involved in a wide range of responses to abiotic stress in plants. Recently, VvWRKY13 was characterized as a negative mediator of salt stress both by analyzing grape cultivars with different tolerance to salt stress and by transgenic *Arabidopsis* overexpressing VvWRKY13. However, all these studies of transcription factors were conducted on transgenic *Arabidopsis* or tobacco, i.e. on model crops. For accurate identification of grape gene functions, studies based not only on model plants but also on the target crop are needed - *Vitis vinifera* L.

The aim of the research is to study the functional role of new genes, regulatory elements and physiological and biochemical mechanisms for increasing productivity and resistance of grapes to stressful abiotic environmental factors (drought tolerance and resistance to soil salinity), as well as a comprehensive analysis of the resulting forms at all stages of research.

**Keywords:** WRKY (TF); Abiotic stresses; grape; genotype; mannitol; chlorophyll; proline ; NaCl; Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; *in vitro*. This research was funded by the Russian Science Foundation Grant no. 23-76-10013

**ПЕПТИДНЫЕ ГОРМОНЫ CLE В РЕГУЛЯЦИИ КЛУБНЕОБРАЗОВАНИЯ КАРТОФЕЛЯ**

**Ганчева М. С. , Лосев М. Р. , Мыскова А. В. , Соколов М. Ф. , Додуева И. Е. , Лебедева М. А. , Лутова Л. А.**

*Санкт-Петербургский государственный университет*  
[m.gancheva@spbu.ru](mailto:m.gancheva@spbu.ru)

Пептиды CLAVATA3/EMBRYO SURROUNDING REGION (CLE) представляют собой группу гормонов растений, которые играют ключевую роль в росте и развитии растений. В нашей работе мы идентифицировали 41 ген CLE у картофеля *Solanum tuberosum* (StCLE) и проанализировали их экспрессию с помощью транскриптомных данных из базы NCBI. Мы обнаружили высокие уровни экспрессии генов StCLE12 и StCLE19 во флоэмных клетках картофеля. У картофеля новые флоэмные клетки образуются для транспорта сахаров и сигнальных молекул в клубень. Мы обнаружили, что сверхэкспрессия гена StCLE12 приводит к активным делениям клеток камбия, уменьшает массу клубней и тормозит старение листьев. С другой стороны, растения со сверхэкспрессией StCLE19 не способны формировать придаточные корни и демонстрировали отсутствие упорядоченного слоя клеток камбия в сосудистых пучках.

В то же время, с помощью ПЦР в реальном времени мы обнаружили увеличение уровня экспрессии генов StCLE4 и StCLE10 в ответ на наличие азота в среде. Азот является макроэлементом, необходимым для роста и развития растений, и часто является ограничивающим фактором в выращивании сельскохозяйственных культур. Мы отметили, что StCLE4, как и CLV3 у *Arabidopsis*, выступает как негативный регулятор развития апикальной меристемы побега и позитивный регулятор роста корней. Транскриптомный анализ показал, что сверхэкспрессия StCLE4 приводит к снижению уровня экспрессии гена *StIT1* (*identity of tuber 1*), который регулирует инициацию клубнеобразования. Столоны со сверхэкспрессией гена StCLE4 превращались в побеги, что схоже со слабым фенотипом мутанта *it1*. Мы также обнаружили, что каллусы мутантов по гену StCLE4 образуют больше побегов, чем контрольные и предположили, что StCLE4 может негативно влиять на *de novo* регенерацию побегов картофеля.

Таким образом, пептиды CLE вовлечены в регуляцию роста побегов, корней, клубней и столонов у картофеля.

Работа поддержана грантами Российского научного фонда (грант номер 22-76-00022) и Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение No 075-15-2020-922 от 16.11.2020).

## CLE PEPTIDE HORMONES IN REGULATION OF POTATO TUBERIZATION

Gancheva M. , Losev M. , Myskova A. , Sokolov M. , Dodueva I. , Lebedeva M. , Lutova L.

Saint Petersburg University  
[m.gancheva@spbu.ru](mailto:m.gancheva@spbu.ru)

The CLAVATA3/EMBRYO SURROUNDING REGION (CLE) peptides are a group of hormones that play a crucial role in plant development and growth. In this study, we identified 41CLE genes in potato *Solanum tuberosum* (StCLE) and analyzed their expression profiles using transcriptomic data from NCBI database. We found a relative high expression level StCfLE12 and StCLE19 in potato phloem cells. In potato, new phloem tissues must appear to transport sugars and signal molecules to tubers. We observed that overexpression of StCLE12 promoted vascular cell proliferation, decreased tuber weight, and delayed leaf senescence. On the other hand, plants with overexpression of StCLE19 were unable to form adventitious roots and demonstrated the absence of ordered cambium cell layer in the vascular bundles.

At the same time, real-time PCR analysis showed that the expression of StCLE4 and StCLE10 was induced by nitrogen supply. Nitrogen is a macronutrient that is essential for plant growth and development, and it is often a limiting factor in crop production. We noted that StCLE4 functions as a negative regulator of normal shoot apex development similar to CLV3 in Arabidopsis. Transcriptomic analysis revealed that overexpression of StCLE4 resulted in the repression of the *StIT1* (*identity of tuber 1*) gene, a regulator of potato tuber initiation. StCLE4-overexpressing stolons were converted into branches that were similar to a mild phenotype of the *it1* mutant. We also found that *cle4* mutant calli formed more shoots than control calli and supposed that StCLE4 could limit *de novo* shoot regeneration capacity of potato explants.

Taken together, our findings suggest that StCLEs regulate shoot, root, tuber, and stolon growth in potato.

The work was supported by the Russian Science Foundation (grant no. 22-76-00022) and Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (in accordance with agreement No 075-15-2020-922 date 16.11.2020).

**ВЛИЯНИЕ НАНО-ФЕРРИТА ЦИНКА НА ИНДУКЦИЮ КАЛЛУСА IN VITRO****Гвоздиков А. М.<sup>1</sup>, Поливанова О. Б.<sup>2</sup>, Федорова Д. Г.<sup>1</sup>**<sup>1</sup>*Оренбургский государственный университет*<sup>2</sup>*РГАУ-МСХА**anastasiaporv@mail.ru*

Исследование посвящено биосинтезированным наночастицам (НЧ) феррита цинка ( $ZnFe_2O_4$ ) в аспекте влияния на индукцию каллуса и регенерацию побегов культур базилика (*Ocimum basilicum* L.) *in vitro*. Полученные растительные культуры *in vitro* вызывают все больший интерес во всем мире из-за их потенциала как элиситоров вторичных метаболитов с антиоксидантными свойствами. В настоящем исследовании различные концентрации НЧ  $ZnFe_2O_4$  и регуляторов роста растений (цитокинов и ауксинов) были добавлены к культурам *in vitro* для устойчивого производства биомассы каллусных культур базилика *O. basilicum*. Мелкодисперсные порошки феррита цинка  $ZnFe_2O_4$  (диаметром менее ~50 нм) получали биологическим способом (методом «зеленого» синтеза) в щелочной среде из водного экстракта петрушки *Petroselinum crispum*.

Каллус, полученный из листовых и стеблевых эксплантов растений базилика душистого (*O. basilicum*) различных сортов (*Русский гигант зеленый*, *Русский гигант фиолетовый*, *Василиск* и *Ереванский сапфир*) («Гавриш», Россия), был получен на средах MS (Мурасиге-Скута) с различными концентрациями и соотношением ауксинов – дихлорфеноксиуксусной (2,4-Д) и  $\beta$ -индолилуксусной кислот (ИУК), и цитокининов (БАП): 1 мг/л 2,4-Д; 2 мг/л 2,4-Д; 3 мг/л 2,4-Д; 3мг/лБАП+0,3мг/лИУК. НЧ  $ZnFe_2O_4$  использовали в концентрациях 12,5, 25 и 50 мкг/л, при введении в питательную среду которые предварительно диспергировали ультразвуком в течение 4 ч. После автоклавирования и перед использованием среды также проводилась обработка ультразвуком в течение 2 ч. Контролем служила среда без добавления НЧ  $ZnFe_2O_4$ . Эксперимент проводился в 3-кратной повторности. Фиксация наблюдений проводилась в течение 1 пассажа (30 дней). Проводилось микроскопирование клеток каллуса. Определяли сухую и сырую биомассу, жизнеспособность, ЖС (окрашивание клеток синькой Эванса в камере Горяева и подсчет мертвых и жизнеспособных клеток) и рассчитывали индекс роста. Образцом для эксперимента был выбран каллус, полученный из растений сорта Русский гигант фиолетовый на среде MS+2 мг/л 2,4-Д (первичный эксплант – стебли). Данный вариант был выбран в связи с самой высокой ЖС и типичности каллуса для данного сорта.

В результате проведенных исследований установлено, что самая высокая ЖС наблюдалась в контрольном варианте (MS+2 мг/л 2,4-Д) на первичных эксплантах растений сорта Русский гигант фиолетовый. В свою очередь, при добавлении НЧ  $ZnFe_2O_4$ , во всех вариантах, ЖС клеток каллуса снижалась. Существенных различий между контролем и средой с добавлением 12,5 мкг/л НЧ  $ZnFe_2O_4$  не наблюдалось. Существенных различий в накоплении сухой биомассы между всеми вариантами и контролем не установлено. Наибольший индекс роста наблюдался в варианте среды MS+2 мг/л 2,4-Д + 25 мкг/л НЧ, наименьший – MS+2 мг/л 2,4-Д + 50 мкг/л НЧ.

Установлено, что сочетание 25 мкг/л  $ZnFe_2O_4$  с MS и 2 мг/л 2,4-Д приводило к пролиферации каллуса, который был более однороден по сравнению с другими вариантами сред, более антоциан-окрашен, самый крупный и по своему виду очень схож с контролем (MS + 2 мг/л 2,4-Д). Применение  $ZnFe_2O_4$  именно в дозе 25 мкг/л индуцировало максимальный прирост сырой биомассы ( $1,50 \pm 0,06$  г) и наибольший индекс роста (3,55) каллусов по сравнению со всеми опытными вариантами, при этом для получения жизнеспособных каллусных линий необходимо присутствие в MS- среде ауксина (2,4-Д). Каллус, полученный на среде с добавлением 50 мкг/л НЧ  $ZnFe_2O_4$ , получился рыхлым, а на среде с добавлением 12,5 мкг/л НЧ  $ZnFe_2O_4$ , наоборот – плотным.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда No 23-76-10060.

**Ключевые слова:** «зеленый» синтез, феррит цинка, каллусогенез, базилик

## EFFECT OF ZINC FERRITE NANOPARTICLES ON CALLUS INDUCTION IN VITRO

Gvozdikova A. M.<sup>1</sup>, Polivanova O. B.<sup>2</sup>, Fedorova D. G.<sup>1</sup><sup>1</sup>Orenburg State University<sup>2</sup>RSAU-MTAA[anastasiaporv@mail.ru](mailto:anastasiaporv@mail.ru)

The study is devoted to biosynthesized zinc ferrite nanoparticles (NPs) ( $ZnFe_2O_4$ ) in terms of their effect on callus induction and shoot regeneration of basil (*Ocimum basilicum* L.) crops in vitro. The obtained plant cultures in vitro are of increasing interest worldwide due to their potential as elicitors of secondary metabolites with antioxidant properties. In the present study, different concentrations of  $ZnFe_2O_4$  NPs and plant growth regulators (cytokines and auxins) were added to in vitro cultures for sustainable production of basil callus culture biomass *O. basilicum*.

Fine zinc ferrite  $ZnFe_2O_4$  powders (less than ~50 nm in diameter) were obtained biologically (by the "green" synthesis method) in an alkaline medium from an aqueous extract of parsley *Petroselinum crispum*. Callus obtained from leaf and stem explants of sweet basil (*O. basilicum*) plants of different varieties (Russian Giant Green, Russian Giant Purple, Basilisk and Yerevan Sapphire) (Gavrish, Russia) was obtained on MS (Murashige-Skoog) media with different concentrations and ratios of auxins – 2,4-dichlorophenoxyacetic (2,4-D) and  $\beta$ -indoleacetic acids (IAA), and cytokinins (BAP): 1 mg/L 2,4-D; 2 mg/L 2,4-D; 3 mg/L 2,4-D; 3 mg/L BAP + 0.3 mg/L IAA.  $ZnFe_2O_4$  NPs were used in concentrations of 12.5, 25 and 50  $\mu$ g/l, when introduced into the nutrient medium, which was preliminarily dispersed by ultrasound for 4 hours. After autoclaving and before use, the medium was also sonicated for 2 hours. The medium without the addition of  $ZnFe_2O_4$  NPs served as a control. The experiment was carried out in triplicate. Observations were recorded for 1 passage (30 days). Microscopic examination of callus cells was carried out. Dry and wet biomass, viability, FS (cell staining with Evans blue in a Goryaev chamber and counting dead and viable cells) were determined, and the growth index was calculated. Callus obtained from plants of the Russian Giant Violet variety on MS+2 mg/l 2,4-D medium (primary explant - stems) was chosen as a sample for the experiment. This variant was chosen due to the highest FS and typicality of callus for this variety.

As a result of the conducted studies, it was established that the highest FS was observed in the control variant (MS + 2 mg / l 2,4-D) on primary explants of plants of the Russian Giant Violet variety. In turn, with the addition of  $ZnFe_2O_4$  NPs, in all variants, the FS of callus cells decreased. No significant differences were observed between the control and the medium with the addition of 12.5  $\mu$ g/l  $ZnFe_2O_4$  NPs. No significant differences in the accumulation of dry biomass were found between all variants and the control. The highest growth index was observed in the medium variant MS + 2 mg/l 2,4-D + 25  $\mu$ g/l NPs, the lowest - MS + 2 mg/l 2,4-D + 50  $\mu$ g/l NPs. It was found that the combination of 25  $\mu$ g/l  $ZnFe_2O_4$  with MS and 2 mg/l 2,4-D resulted in the proliferation of callus, which was more uniform compared to other media variants, more anthocyanin-colored, the largest and very similar in appearance to the control (MS + 2 mg/l 2,4-D). The use of  $ZnFe_2O_4$  exactly at a dose of 25  $\mu$ g/l induced the maximum increase in raw biomass ( $1.50 \pm 0.06$  g) and the highest growth index (3.55) of calli compared to all experimental variants, while the presence of auxin (2,4-D) in the MS medium is necessary to obtain viable callus lines. The callus obtained on the medium with the addition of 50  $\mu$ g/l  $ZnFe_2O_4$  NPs turned out to be loose, and on the medium with the addition of 12.5  $\mu$ g/l  $ZnFe_2O_4$  NPs, on the contrary, it was dense.

The study was supported by the grant of the Russian Science Foundation No. 23-76-10060, <https://rscf.ru/project/23-76-10060/>

Keywords: "green" synthesis, zinc ferrite, callusogenesis, basil



## ИССЛЕДОВАНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ПЕРВОГО КОМПОНЕНТА ЗИМОСТОЙКОСТИ РАСТЕНИЙ АБРИКОСА

Голубев А. М.<sup>1\*</sup>, Селиванов Н. Ю.<sup>2</sup>, Куликов А. А.<sup>1</sup>, Вдовенко В. С.<sup>1</sup>, Алёшина Н. А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Юго-Восток

<sup>2</sup>Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН  
[biotechnoalgol@mail.ru](mailto:biotechnoalgol@mail.ru)

Цель данного исследования – выявить биохимические процессы определяющие устойчивость растений абрикоса к низким температурам при подготовке растений к зимнему периоду, для использования их в отборе зимостойких генотипов. В исследованиях участвовало 27 генотипов абрикоса. Спектры легкорастворимых белков изучали у трёх морозостойких образцов и трёх неморозостойких.

Впервые проведены исследования связи элементов вызревания побегов абрикоса с их морозостойкостью в период закалки. Гистохимическими методами изучена динамика накопления крахмала, ф-лигнина, липидов и суберина, биофизическими – морозостойкость, содержание воды и спектр легкорастворимых белков в тканях однолетних побегов разных по морозостойкости генотипах абрикоса в процессе осенней подготовки к зимнему периоду.

Показано, что гистохимические показатели вызревания древесины не могут служить надёжным маркером отбора на морозостойкость. Корреляционный анализ не выявил достоверной зависимости морозостойкости от содержания исследованных веществ, хотя наиболее зимостойкие генотипы, в конце третьей стадии закалки, содержали минимум крахмала, максимум ф-лигнина, липидов и суберина. Морозостойкость тканей сильно зависела от содержания в них воды, коэффициент корреляции 0,84\*\*.

Прослеживается хорошая зависимость морозостойкости генотипов с накоплением в коре легкорастворимой фракции белков с молекулярными массами от 12 до 100 кД в процессе осенней закалки. Группа морозостойких генотипов абрикоса накапливала значительно больше белков в процессе закалки, чем неморозостойкая. низкотемпературный стресс морозостойкие генотипы абрикоса реагировали более активно. После стресса происходило как увеличение концентраций отдельных полипептидов в зоне молекулярных масс от 12 до 18 кД, так и появление новых белков.

Наиболее морозостойкий генотип (LXIII-09-4) имел наибольшее число полипептидов в низкомолекулярной зоне, как после предварительной осенней закалки, так и после внезапного низкотемпературного стресса.

Из результатов эксперимента можно заключить, что по электрофореграмме белков коры абрикоса позднелетний период можно судить о способности растений конкретного генотипа к подготовке к раннезимним морозам и их предполагаемой устойчивости по первому компоненту зимостойкости. Обнаруженную закономерность можно использовать как при подборе пар в скрещиваниях на зимостойкость, так и при оценке устойчивости коллекционных генотипов.

*Ключевые слова:* абрикос, SDS-электрофорез, морозостойкость древесины и цветковых почек, закалка к низким температурам, первый компонент зимостойкости

## STUDY OF BIOCHEMICAL PROCESSES DURING THE FORMATION OF THE FIRST COMPONENT OF WINTER HARDINESS OF APRICOT PLANTS

Golubev A. M.<sup>\*1</sup>, Selivanov N. Y.<sup>2</sup>, Kulikov A. A.<sup>1</sup>, Vdovenko V. S.<sup>1</sup>, Aleshina N. A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Federal State Budgetary Institution "Federal Agrarian Research Center of the South-East"*

<sup>2</sup>*Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Federal Research Center "Saratov Scientific Center RAS"*  
[biotechnoalgol@mail.ru](mailto:biotechnoalgol@mail.ru)

The purpose of this study is to identify the biochemical processes that determine the resistance of apricot plants to low temperatures when preparing plants for the winter period, for their use in the selection of winter-hardy genotypes. The studies involved 27 apricot genotypes. The spectra of easily soluble proteins were studied in three frost-resistant samples and three non-frost-resistant ones.

For the first time, studies have been carried out on the connection between the elements of ripening of apricot shoots and their frost resistance during the hardening period. The dynamics of accumulation of starch, f-lignin, lipids and suberin were studied using histochemical methods. Frost resistance, water content and the spectrum of easily soluble proteins in the tissues of annual shoots of apricot genotypes of different frost resistance during the autumn preparation for the winter period were studied using biophysical methods.

It has been shown that histochemical indicators of wood ripening cannot serve as a reliable marker of selection for frost resistance. Correlation analysis did not reveal a significant dependence of frost resistance on the content of the studied substances, although the most winter-hardy genotypes, at the end of the third stage of hardening, contained a minimum of starch and a maximum of f-lignin, lipids and suberin. The frost resistance of fabrics strongly depended on their water content, the correlation coefficient was 0.84\*\*.

There is a good correlation between the frost resistance of genotypes and the accumulation in the bark of a readily soluble fraction of proteins with molecular weights from 12 to 100 kDa during the autumn hardening process. The group of frost-resistant apricot genotypes accumulated significantly more proteins during the hardening process than the non-frost-resistant group.

Frost-resistant apricot genotypes responded more actively to low-temperature stress. After stress, there was both an increase in the concentrations of individual polypeptides in the molecular mass zone from 12 to 18 kd, and the appearance of new proteins.

The most frost-resistant genotype (LXIII-09-4) had the largest number of polypeptides in the low-molecular zone, both after preliminary autumn hardening and after sudden low-temperature stress.

From the results of the experiment, we can conclude that from the electrophoregram of apricot bark proteins in late autumn, one can judge the ability of plants of a particular genotype to prepare for early winter frosts and their expected resistance to the first component of winter hardiness. The discovered pattern can be used both when selecting pairs in crosses for winter hardiness, and when assessing the stability of collection genotypes.

**Keywords:** apricot, SDS electrophoresis, frost resistance, hardening to low temperatures, the first component of winter hardiness

## КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА ПЕРСПЕКТИВНОГО СОРТОВОГО ФОНДА ЧЕРЕШНИ ДАГЕСТАНСКОЙ СЕЛЕКЦИОННОЙ ОПЫТНОЙ СТАНЦИИ ПЛОДОВЫХ КУЛЬТУР

Гусейнова Б. М. , Абдулгамидов М. Д.

ФГБНУ "Федеральный аграрный научный центр Республики Дагестан"  
[batuch@yandex.ru](mailto:batuch@yandex.ru)

Особое место среди садовых культур в целом ряде стран мира занимает черешня (*Prunus avium* L.), ценится ранним созреванием, обладает высокими вкусовыми и питательными свойствами. Ежегодно в мире выращивают более 2 млн т. черешни, а в Российской Федерации, в среднем, более 80 тысяч т., однако это недостаточно для удовлетворения потребительского спроса на черешню в нашей стране.

В условиях санкционной политики недружественных стран, открытой научно-технической конкуренции и нынешних климатических вызовов большой вклад в расширение площадей косточковых культур и в превращение Северо-Кавказского региона, в том числе и Республики Дагестан, в крупного производителя черешни, может внести научно-исследовательская деятельность сотрудников Дагестанской селекционной опытной станции плодовых культур, где в результате длительной и плодотворной работы ученых, создан крупнейший на юге России селекционно-генетический фонд плодовых культур, насчитывающий более 5000 единиц (сорта, гибридные формы, клоны, мутанты), причем в сортовой фонд черешни входят около 100 сортов, среди которых интродуценты и более 26 перспективных сортов дагестанской селекции. В настоящее время для увеличения объемов производства черешни наиболее актуальными являются исследования, направленные на расширение генетического разнообразия и создание сортов, сочетающих комплекс хозяйственно-ценных признаков с хорошим адаптивным потенциалом к био- и абиострессорам среды выращивания. Цель работы – дать комплексную агробиологическую и товарно-технологическую оценку 30-ти интродуцированным и новым сортам черешни дагестанской селекции, а также выявить из их числа доноров и ген-источников селекционно-ценных признаков.

Определено, что сорта черешни дагестанской селекции: Любимица Корвацкого, Гранатовая, Бела, Поздняя Лермонтова, Марал, Долорес и Нике высокоустойчивы к весенним заморозкам – подмерзание цветков не превышало 18,3 %. Плоды черешни Буйнакская черная, Марал, Элитная форма 129/1, Жемчужная, Поздняя Лермонтова, Лезгинка, Любимица Корвацкого, Бела и Нике наиболее устойчивы к растрескиванию (от 8,0 до 18,0 %) в процессе созревания при высокой влажности воздуха. Новые селекционные сорта мало восприимчивы к коккомикозу и монилиальному ожогу, но сорта Ленинградская гвардейская и Долорес отличились низкой устойчивостью к монилиальной гнили плодов (поражение 21-23 %). Все новые сорта черешни, за исключением сорта Бела (6,0 г), крупноплодные (7,5-10,5 г). Высокие показатели урожайности (в среднем 12,0-17,6 т/га) определены у сортов Нике, Бела, Долорес, Поздняя Лермонтова и Гранатовая. Лучшими по запасу сахаров, кислот, витаминов, полифенольных и минеральных веществ оказались плоды сортов Бигарро Краинского, Буйнакская черная, Ленинградская гвардейская, Поздняя Лермонтова, Гранатовая, Лезгинка и Нике. Комплексная оценка качества 12-ти сортов черешни, интродуцированных в условиях предгорной провинции Дагестана, показала, что наиболее перспективными среди них, с лучшими показателями качества плодов и высокой устойчивостью к вредителям и грибным болезням, которые могут быть рекомендованы для использования в селекционной работе как ценные доноры и ген-источники полезных признаков, оказались сорта черешни: Полянка, Гудзон, Мертон Бигарро, Ван, Валерий Чкалов, Романтика и Винка. Исследование выполнено при поддержке Минобрнауки РФ в рамках Государственного задания ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Республики Дагестан» (тема FNMN-2022-0009, госрегистрации 122022400196-7).

**Ключевые слова:** черешня (*Prunus avium* L.), дагестанские селекционные сорта, интродуцированные сорта, урожайность, устойчивость к стрессовым факторам среды

## COMPREHENSIVE ASSESSMENT OF THE PROSPECTIVE VARIETY FUND OF SWEET CHERRIES OF THE DAGESTAN BREEDING EXPERIMENTAL STATION OF FRUIT CROPS

Guseynova B. M. , Abdulgamidov M. D.

*Dagestan Agriculture Science Center*  
*[batuch@yandex.ru](mailto:batuch@yandex.ru)*

A special place among garden crops in a number of countries of the world is occupied by sweet cherries (*Prunus avium* L.), which is valued by early ripening, has high taste and nutritional properties. More than 2 million tons of cherries are grown annually in the world, and in the Russian Federation, on average, more than 80 thousand tons, but this is not enough to meet consumer demand for cherries in our country.

In the context of the sanctions policy of unfriendly countries, open scientific and technical competition and current climatic challenges, a great contribution to the expansion of the area of stone-crop crops and to the transformation of the North Caucasus region, including the Republic of Dagestan, in a large producer of sweet cherries, can contribute research activities of employees of the Dagestan breeding experimental station of fruit crops, where, as a result of the long and fruitful work of scientists, the largest selection and genetic fund of fruit crops in southern Russia was created, numbering more than 5 thousand

units (varieties, hybrid forms, clones, mutants), and the varietal stock of sweet cherries includes about 100 varieties, including introducers and more than 26 promising varieties of Dagestan selection.

The purpose of the work is to give a comprehensive agrobiological and commodity-technological assessment of 30 introduced and new varieties of sweet cherries of Dagestan selection, as well as to identify from among them donors and source genes of selection-valuable traits.

It was determined that the varieties of sweet cherries of Dagestan selection: Lyubimica Korvackogo, Granatovaya, Bela, Pozdnyaya Lermontova, Maral, Dolores and Nika are highly resistant to spring frosts - freezing of flowers did not exceed 18.3%. Sweet cherry fruits Bujnaxskaya chernaya, Maral, Elitnaya forma 129/1, Zhemchuzhnaya, Pozdnyaya Lermontova, Lezginka, Lyubimica Korvackogo, Bela and Nika are most resistant to cracking (from 8.0 to 18.0%) during ripening at high air humidity. New breeding varieties are little susceptible to coccomycosis and monilial burn, but the varieties Leningradskaya Gvardeyskaya and Dolores were distinguished by low resistance to monilial rotting of fruits (damage of 21-23%). All new varieties of sweet cherries, with the exception of the Bela variety (6.0 g), are large-fruited (7.5-10.5 g). High yields (on average 12.0-17.6 t/ha) were found in the varieties Nike, Bela, Dolores, Pozdnyaya Lermontova and Granatovaya. The best in terms of the stock of sugars, acids, vitamins, polyphenolic and mineral substances were the fruits of the Bigarro Krainskogo, Bujnaxskaya chernaya, Leningradskaya gvardejskaya, Pozdnyaya Lermontova, Granatovaya, Lezginka and Nika varieties.

A comprehensive assessment of the quality of 12 varieties of sweet cherries introduced in the conditions of the foothill province of Dagestan showed that the most promising among them, with the best indicators of fruit quality and high resistance to pests and fungal diseases, which can be recommended for use in breeding work as valuable donors and gene sources of useful signs, turned out to be sweet cherry varieties: Polyanka, Gudzon, Merton Bigarro, Van, Valerij Chkalov, Romantika and Vinka.

The study was carried out with the support of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation within the framework of the State Assignment of the Dagestan Agriculture Science Center (topic FNMN-2022-0009, state registration No. 122022400196-7).

**Keywords:** Sweetcherries (*Prunus avium* L.), Dagestan selection varieties, introduced varieties, yield, resistance to environmental stressors

## ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ РАЗВИТИЯ АНДРОГЕННЫХ ГАПЛОИДОВ У ЛИНИИ КУКУРУЗЫ ЗМС-П

Гуторова О. В. , Морозова В. С.

*ФГБОУ ВО "Саратовский национальный исследовательский государственный университет  
имени Н.Г. Чернышевского", Саратов  
[olga.gutorova@mail.ru](mailto:olga.gutorova@mail.ru)*

Особый интерес для селекции представляет получение и использование андрогенных гаплоидов, т.е. особей, у которых имеются морфо- и цитогенетические признаки отцовского родителя. В области практической селекции и биотехнологии использование индукторов андрогенных гаплоидов позволяет быстро получать ядерно-цитоплазматические гибриды или аллоплазматические линии. Известен опыт использования линий кукурузы, склонных к образованию андрогенных гаплоидов, в качестве гаплоиндукторов матроклиных гаплоидов, что позволило ученым сделать вывод, что есть какая-то связь между появлением матроклиных и андрогенных гаплоидов. Цель работы заключалась в оценке возможности образования андрогенных растений у линии кукурузы ЗМС-П (гаплоиндуктора матроклиных гаплоидов) при опылении её пыльцой обычных линий.

Была оценена способность линии ЗМС-П формировать андрогенные гаплоиды. Для этого растения линии использовали в качестве материнских, опыляя их пыльцой восьми обычных линий, не склонных к индукции гаплоидов материнского и отцовского типов. Для выявления гаплоидов использовали метод генетического маркирования, морфометрический и цитогенетический методы.

В результате исследования оказалась, что линия ЗМС-П склонна к индукции андрогенных гаплоидов. Частота андрогенеза составила 0,08 %. Данная способность позволит использовать линию для получения новых гаплоиндукторов, а также, в качестве донора генов андрогенеза.

*Ключевые слова:* кукуруза, андрогенез, андрогенный гаплоид, гаплоиндуктор.

## ASSESSMENT OF THE POSSIBILITY OF DEVELOPING ANDROGENIC HAPLOYDS IN THE ZMS-P CORN LINE

Gutorova O. V. , Morozova V. S.

*Saratov State University*  
[olga.gutorova@mail.ru](mailto:olga.gutorova@mail.ru)

Of particular interest for breeding is the production and use of androgenic haploids, i.e. individuals that have morpho- and cytogenetic traits of the paternal parent. In the field of practical breeding and biotechnology, the use of androgenic haploid inducers allows one to quickly obtain nuclear-cytoplasmic hybrids or alloplasmic lines. There is experience in using corn lines capable to the formation of androgenic haploids as haploinducers of matroclinic haploids, which allowed scientists to conclude that there is some connection between the appearance of matroclinic and androgenic haploids. The aim of the work was to assess the possibility of the formation of androgenic plants in the ZMS-P maize line (inductor of matroclinic haploids) when pollinated with pollen from ordinary lines.

The ability of the ZMS-P line to form androgenic haploids was assessed. For this purpose, the plants of the line were used as maternal plants, pollinating them with pollen from eight normal lines that are not capable to inducing maternal and paternal haploids. The genetic marking method, morphometric and cytogenetic methods were used to identify haploids.

The study showed that the ZMS-P line is prone to inducing androgenic haploids. The androgenesis frequency was 0.08%.

This ability will allow the line to be used to obtain new haploinducers, as well as a donor of androgenesis genes.

*Keywords:* corn, androgenesis, androgenic haploid, haploinducer.

**ОСОБЕННОСТИ ПЫЛЬЦЫ ЛИНИЙ КУКУРУЗЫ ГАПЛОИДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ****Гуторова О. В. , Коптилова А. А.**

*ФГБОУ ВО "Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского", Саратов  
[olga.gutorova@mail.ru](mailto:olga.gutorova@mail.ru)*

Линии, полученные на основе удвоенных гаплоидов, являются ценным материалом для создания высокогетерозисных гибридов кукурузы. При проведении селекционных работ с целью получения продуктивного потомства актуальным является использование метода пыльцевой оценки. Метод позволяет определить репродуктивный потенциал растений посредством анализа основных характеристик пыльцевых зерен. Работа посвящена пыльцевому анализу линий кукурузы гаплоидного происхождения, проведенному для оценки перспективы их использования в селекционных схемах.

В период открытого цветения была собрана и зафиксирована пыльца 18 линий кукурузы гаплоидного происхождения ГЛ 1, ГЛ 2, ГЛ 3, ГЛ 4, ГЛ 5, ГЛ 6, ГЛ 9, ГЛ 10, ГЛ 11, ГЛ 2 (22), ГЛ 3 (22), ГЛ 4 (22), ГЛ 1 (23), ГЛ 2 (23), ГЛ 3 (23), ГЛ 4 (23), ГЛ 5 (23), ГЛ 6 (23). В качестве контроля использовали линии ГПЛ-1 и ТМ. Морфологию пыльцевых зерен линий изучали на временных ацетокарминовых препаратах с помощью светового микроскопа Zeiss «Primo Star». У исследуемых линий изучали от 200 до 600 штук пыльцевых зерен.

При анализе пыльцы линий кукурузы гаплоидного происхождения были выделены два основных класса пыльцевых зерен (ПЗ): выполненные (нормальные) и дегенерирующие. Выполненные и хорошо окрашенные ПЗ были отнесены к «условно фертильным». Пыльцевые зерна остальных групп считались дефектными и стерильными.

Наиболее часто во всех вариантах встречались следующие аномалии: плазмолизированные (5,3-42,0 %) и пустые пыльцевые зерна (0,5-11,8 %). В незначительном количестве встречались пыльцевые зерна нетипичной формы (0,17- 2,17 %) и интенсивно окрашенные (0,25-0,33 %). Как в экспериментальных линиях, так и в контроле, количество дефектных ПЗ было большим: от 15,3 до 44,0 % у линий гаплоидного происхождения, 11,0 % (ГПЛ-1) и 24 % (ТМ) – у контрольных линий. Высокий процент дефектных пыльцевых зерен мы связываем с неблагоприятными условиями возделывания кукурузы (низкая влажность почвы и воздуха и высокая температура воздуха).

На основании полученных данных для дальнейших работ можно рекомендовать линию ГЛ 4 (22) с дефектностью пыльцы 15,3 % и линию ГЛ 4 с дефектностью – 16,0 %. Обе линии имеют наименьшее количество дефектной пыльцы по сравнению с остальными линиями гаплоидного происхождения.

*Ключевые слова:* кукуруза, пыльца, пыльцевой анализ, линия гаплоидного происхождения.

## MAIZE LINES OF HAPLOID ORIGIN POLLEN FEATURES

Gutorova O. V. , Koptilova A. A.

*Saratov State University*  
*[olga.gutorova@mail.ru](mailto:olga.gutorova@mail.ru)*

Lines obtained on the basis of doubled haploids are valuable material for the creation of highly heterotic hybrids of corn. When conducting breeding work in order to obtain productive offspring, the use of the pollen evaluation method is relevant. The method allows determining the reproductive potential of plants by analyzing the main characteristics of pollen grains. The work is devoted to the pollen analysis of corn lines of haploid origin, carried out to assess the prospects for their use in breeding schemes.

During the open flowering period, pollen was collected and recorded from 18 haploid maize lines GL 1, GL 2, GL 3, GL 4, GL 5, GL 6, GL 9, GL 10, GL 11, GL 2 (22), GL 3 (22), GL 4 (22), GL 1 (23), GL 2 (23), GL 3 (23), GL 4 (23), GL 5 (23), GL 6 (23).

Lines GPL-1 and TM were used as a control. The morphology of pollen grains of the lines was studied on temporary acetocarmine preparations using a Zeiss Primo Star light microscope. From 200 to 600 pollen grains were studied in the lines under study.

When analyzing the pollen of maize lines of haploid origin, two main classes of pollen grains (PG) were identified: full (normal) and degenerating. Full and well-stained PG were classified as "conditionally fertile". Pollen grains of other groups were considered defective and sterile.

The most frequent anomalies in all variants were the following: plasmolyzed (5.3-42.0%) and empty pollen grains (0.5- 11.8%). Atypical pollen grains (0.17-2.17%) and intensely colored pollen grains (0.25-0.33%) were found in small quantities. Both in the experimental lines and in the control, the number of defective pollen grains was high: from 15.3 to 44.0% in haploid lines, 11.0% (GPL-1) and 24% (TM) in the control lines. We associate the high percentage of defective pollen grains with unfavorable conditions for corn cultivation (low soil and air humidity and high air temperature).

Based on the data obtained, line GL 4 (22) with a pollen defect rate of 15.3% and line GL 4 with a defect rate of 16.0% can be recommended for further work. Both lines have the lowest amount of defective pollen compared to other lines of haploid origin.

*Keywords:* corn, pollen, pollen analysis, line of haploid origin.



## ХАРАКТЕРИСТИКА НОВОГО ШТАММА ЗЕЛеноЙ МИКРОВОДОРОСЛИ ИРАН D9A3 ИЗ КОЛЛЕКЦИИ ЖИВЫХ КУЛЬТУР КАРОТИНОГЕННЫХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ ИНБЮМ (IBSSCA)

Данцюк Н. В. , Чубчикова И. Н. , Челебиева Э. С. , Дробецкая И. В. , Мансурова И. М.

ФИЦ ИнБЮМ им.А.О.Ковалевского РАН  
[nterent@mail.ru](mailto:nterent@mail.ru)

Исследования вторичного каротиногенеза как стратегии выживания микроводорослей Chlorophyta в условиях постоянного абиотического стресса актуальны более трёх десятилетий. Каротиногенные микроводоросли широко распространены в пресноводных и наземных биоценозах, и поиск среди них наиболее продуктивных штаммов выявляет новые потенциально перспективные объекты для получения кетокаротиноидов – мощных антиоксидантов и иммуномодуляторов, представляющих ценность для пищевой и косметической промышленности, фармакологии, сельского хозяйства. На базе коллекции живых культур каротиногенных микроводорослей ИнБЮМ (IBSSca) проводятся работы по исследованию экстремобионтных каротиногенных микроводорослей (различных таксономических групп), полученных путем межколлекционного обмена или собственных полевых сборов. Изучаются механизмы их адаптации к острому абиотическому стрессу, используются молекулярно-генетические методы и электронно-микроскопические технологии, позволяющие значительно улучшить понимание явления вторичного каротиногенеза. В коллекции обеспечивается сохранность перспективных видов на агаризованных питательных средах для дальнейшего изучения их биотехнологического потенциала как продуцентов высокоценных кетокаротиноидов астаксантинового ряда, а также природных источников липидов для биотоплива третьего поколения.

В целях пополнения коллекции в 2021 году был получен новый штамм зеленой микроводоросли Иран D9A3 из Федерального научного центра биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН (г. Владивосток, Россия). Штамм был изолирован со ствола пальмы в 2009 году (г. Нур, Иран) и его таксономический статус в рамках отдела Chlorophyta на момент получения был неизвестен. Альгологически чистая культура Иран D9A3 поддерживается в контролируемых условиях в активно вегетирующем состоянии методом субкультуры на агаризованной питательной среде Болда. При длительном хранении на агаре визуально отмечено покраснение стареющих культур, что является характерной особенностью каротиногенных видов. Для определения таксономического положения штамма применялся интегративный подход, включающий методы молекулярно-генетического анализа, микроскопии и анализ морфо-физиологических характеристик. Филогенетический анализ с использованием стандартных маркерных генов 18S рРНК и *rbcl*, характерных для Chlorophyceae, дал возможность отнести штамм Иран D9A3 к семейству Scenedesmaceae. Результаты микроскопии позволили предположить принадлежность штамма к роду *Coelastrella* из-за наличия на поверхности клеток меридиональных ребер, сходящихся на полюсах – характерного морфологического признака данного рода. Отмечено, что молодые вегетативные клетки эллипсоидной формы, с апикальными утолщениями, их длина и ширина варьируют в пределах 7- 14 мкм и 5-9 мкм, соответственно. Бесполое размножение осуществляется автоспорами (по 2-4 в спорангии). Половое размножение и жгутиковая стадия не зарегистрированы. По мере старения красные клетки округляются, увеличиваются в размерах, утолщается клеточная оболочка. Методом тонкослойной хроматографии в каротиноидном спектре краснеющей культуры были идентифицированы кетокаротиноиды, характерные для представителей порядка Sphaeropleales: кантаксантин (доминирующая фракция, 24% от суммарных каротиноидов), адониксантин и астаксантин и их эфиры. Содержание каротиноидов в сухой биомассе составляло 0,13%. При подборе оптимальных условий культивирования и интенсификации вторичного каротиногенеза штамм Иран D9A3 может рассматриваться как потенциально перспективный объект биотехнологических исследований, в качестве продуцента высокоценных кетокаротиноидов группы астаксантина.

## CHARACTERISTICS OF A NEW GREEN MICROALGAE STRAIN IRAN D9A3 FROM THE IBSSCA COLLECTION OF LIVE CAROTENOID-PRODUCING MICROALGAE CULTURES

Dantsyuk N. V. , Chubchikova I. N. , Chelebieva E. S. , Drobetskaya I. V. , Mansurova I. M.

*A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS*  
[nterent@mail.ru](mailto:nterent@mail.ru)

Studies of secondary carotenogenesis as a survival strategy for Chlorophyta microalgae under abiotic stress conditions have been relevant for more than three decades. Carotenogenic microalgae are widely distributed in freshwater and terrestrial ecosystems. The search for the most productive strains among them reveals new promising candidates for the production of ketocarotenoids. These valuable antioxidants and immunomodulators are widely used in the food, cosmetic, pharmaceutical, and agricultural industries.

On the basis of the IBSSca (Collection of live cultures of carotenogenic microalgae from the Kovalevskii Institute of Biology of the Southern Seas), which is continuously updated with new species through inter-collection exchanges and our own field sampling, research is ongoing to identify new extremophilic carotenogenic microalgae from various taxonomic groups. Their responses to acute abiotic stress are being studied to better understand the physiology and adaptive significance of secondary carotenogenesis.

The collection ensures the preservation of promising species on suitable agar media for further study of their biotechnological potential as producers of ketocarotenoids (astaxanthin and its synthesis intermediates) as well as lipid-based third-generation biofuels.

In 2021, the collection was replenished with a new strain of green microalgae, Iran D9A3, obtained from the Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences (Vladivostok, Russia). This strain was isolated from a palm tree trunk in 2009 in Nur, Iran, and its taxonomic status within the Chlorophyta was unknown at the time of receipt.

Algologically pure Iran D9A3 culture is maintained in an active vegetative state on agarized Bold media under controlled conditions using the subculture method. The reddening of microalgal colonies on agar slants was visually observed when they were stored for a long time period. This is a characteristic feature of carotenogenic species. To determine the taxonomic position of the strain, an integrative approach was employed, including the analysis of molecular genetic, morpho-physiological, and electron microscopic characteristics.

Molecular phylogenetic analysis using standard 18S rRNA and *rbcl* marker genes for Chlorophyceae allows assignment of the Iran D9A3 strain to the Scenedesmaceae family. The results of light, scanning electron, and confocal microscopy suggest that the strain belongs to the genus *Coelastrella*, due to the presence of meridional ribs on the cell surface that converge at the poles, which is a characteristic morphological feature of this genus.

It is noted that young vegetative cells have an ellipsoidal shape, with apical thickening. Their length and width are 7-14 microns and 5-9 microns respectively. Asexual reproduction is carried out by autospores (2-4 in sporangia). Sexual reproduction and the flagellar stage were not noted.

As cultures age, red cells become rounder and larger, and the cell walls become thicker. Using thin-layer chromatography, ketocarotenoids characteristic of the Sphaeropleales order were identified in the carotenoid composition: canthaxanthin (dominant fraction, 24% of total carotenoids), adonixanthin, astaxanthin, and their esters. Carotenoid content in dry biomass was 0.13%. When selecting optimal conditions for the cultivation and intensification of secondary carotenogenesis, the Iran D9A3 strain can be considered a potentially promising object for biotechnological research as a producer of valuable ketocarotenoids, astaxanthin biosynthesis intermediates.

## РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ КЛЮЧЕВЫХ ФИТОГОРМОНОВ У *ARABIDOPSIS THALIANA* L.: ПОЛНОГЕНОМНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИС-ЭЛЕМЕНТОВ

Долгих В. А.<sup>1,2</sup>, Землянская Е. В.<sup>1,2</sup>, Левицкий В. Г.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН»,  
Новосибирск

<sup>2</sup>Новосибирский государственный университет, Новосибирск  
[volleydollmc1@gmail.com](mailto:volleydollmc1@gmail.com)

Регуляция экспрессии генов осуществляется при помощи транскрипционных факторов (ТФ), которые активируют или подавляют экспрессию, связываясь с регуляторными участками в промоторах, называемыми цис-элементами (ЦЭ). В живой системе ТФ редко работают поодиночке и формируют гомо- и гетеродимеры с другими ТФ, что на уровне ДНК отражается в виде композиционных элементов: пар ЦЭ, перекрывающихся между собой или разделённых спейсерами. Комбинаторная сложность подобной регуляции затрудняет её экспериментальное исследование. Перспективным подходом для изучения регуляции экспрессии генов на уровне ЦЭ и композиционных элементов является совместный анализ полногеномных данных, позволяющих детектировать события связывания ТФ и изменения уровня экспрессии генов (например, данных ChIP-seq и RNA-seq). Разработка методов, позволяющих производить подобного рода анализ, является актуальной задачей.

В рамках данного исследования мы создали программный конвейер SFmotif, позволяющий совместно анализировать данные ChIP-seq и RNA-seq с целью выявления потенциальных цис-элементов, регулирующих изменение экспрессии генов в заданных условиях. Он извлекает обогащённые в пиках ChIP-seq мотивы и оценивает ассоциацию их наличия в промоторах генов с изменением активности генов. Конвейер написан на языке R и использует как существующие программные решения (Homer и MCOT), так и самостоятельно реализованные функции и модули.

Мы применили SFmotif для поиска потенциальных цис-элементов, участвующих в регуляции ответа на шесть ключевых фитогормонов (этилен, ауксин, цитокинин, брассиностероиды, жасмонаты и абсцизовую кислоту) у *Arabidopsis thaliana*. Мы использовали публично доступные данные ChIP-seq по связыванию ключевых ТФ сигнальных путей этих гормонов (EIN3, ARF6, ARR1, BES1, MYC2 и ABF1, соответственно) и данные индуцированных этими гормонами транскриптомов. На основании полученных результатов мы описали три разные регуляторные стратегии, которые могут реализовывать эти фитогормоны. (1) Ключевой ТФ сигнального пути регулирует транскрипцию в ответ на фитогормон, преимущественно взаимодействия с сайтами, описываемыми одним мотивом. (2) Сайты связывания ключевого ТФ подразделяются на несколько структурных вариантов, которые различаются по своему регуляторному потенциалу. (3) Ключевой ТФ работает преимущественно в кооперации с множеством ТФ-партнеров.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, грант № 20-14-00140.

## REGULATION OF GENE EXPRESSION IN RESPONSE TO THE KEY PHYTOHORMONES IN *ARABIDOPSIS THALIANA* L.: A GENOME-WIDE STUDY OF CIS-ELEMENTS

Dolgikh V. A.<sup>1,2</sup>, Zemlyanskaya E. V.<sup>1,2</sup>, Levitsky V. G.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Cytology and Genetics of SB RAS*

<sup>2</sup>*Novosibirsk State University, Novosibirsk*  
[volleydollmc1@gmail.com](mailto:volleydollmc1@gmail.com)

Gene expression is regulated by transcription factors (TFs), which activate or repress expression upon binding to regulatory sites in promoters called *cis*-elements (CEs). In the living system, TFs rarely act alone and form homo- and heterodimers with other TFs, which bind at the DNA level with composite elements: pairs of CEs overlapping each other or separated by spacers. The combinatorial complexity of such regulation complicates its experimental study. A promising approach to study the regulation of gene expression at the level of CEs and composite elements is the joint analysis of genome-wide data, which detects TF binding events and changes in gene expression levels (For example, ChIP-seq and RNA-seq data). The development of tools for such analysis is a relevant task.

In this study, we developed SFmotif pipeline, which allows integrated analysis of ChIP-seq and RNA-seq data to identify potential *cis*-elements, which regulate gene expression changes in certain conditions. SFmotif extracts motifs enriched in ChIP-seq peaks and evaluates the association of their presence in gene promoters with gene expression changes. This pipeline is developed in R programming language and uses both existing software solutions (Homer and MCOT) and self-implemented functions and modules.

We applied SFmotif for the search of potential *cis*-elements involved in regulation of response to six key phytohormones (ethylene, auxin, cytokinin, brassinosteroids, jasmonates, and abscisic acid) in *Arabidopsis thaliana*. We used publicly available ChIP-seq data for the key TFs for the corresponding signaling pathways (EIN3, ARF6, ARR1, BES1, MYC2, and ABF1, respectively) and the data for the hormone-induced transcriptomes. Based on our results, we distinguished three distinct regulatory strategies, which can be implemented by these hormones. (1) The key TF of the pathway regulates hormone-dependent transcription mainly through interaction with the binding site described by a single motif. (2) The key TF binding sites segregate into several structural variants, which differ in their regulatory potential. (3) The key TF works primarily in cooperation with a multitude of TF partners.

The study was supported by the RSF grant No. 20-14-00140.

## ТЕОРИЯ ЭКОЛОГО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО УСТРОЙСТВА ПРИЗНАКОВ ПРОДУКТИВНОСТИ МНОГОЛЕТНИХ ПЛОДОВЫХ КУЛЬТУР И НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ СЕЛЕКЦИИ

Драгавцева И. А.<sup>1</sup>, Драгавцев В. А.<sup>2</sup>, Клюкина А. В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства и виноделия»

<sup>2</sup>ФГБНУ Агрофизический научно-исследовательский институт  
[ld@list.ru](mailto:ld@list.ru)

Современные исследования показали, что уровни продуктивности сельскохозяйственных культур (в том числе плодовых) определяются не только свойствами генов, а в значительной степени эффектами «взаимодействия генотип- среда» (ВГС). Создана теория эколого-генетической организации количественных признаков (ТЭГОКП, В.А. Драгавцев и др., 1984) которая постулирует: «Механизм эффектов ВГС – это система наборов продуктов генов, имеющих в клетках сортов и детерминирующих один и тот же признак продуктивности при смене лим-фактора среды». Оценена пластичность онтогенезов сортов плодовых культур на основе закономерностей проявления их генотипов в фенотипе в меняющихся условиях среды. Разработаны (на основе ТЭГОКП) на примере сортов груши, персика алгоритмы выявления «узких» мест в устойчивости сортов по конкретным фазам развития к температурным лимитам среды в зимне-весенний период. Выявлены резервы адаптивности у сортов по каждой из фаз развития. Даны предложения по подбору родительских пар для селекции плодовых культур на основе их устойчивости к лимитам среды по каждой фазе онтогенеза. Представлены новые методы селекции плодовых культур на основе выявления резервов адаптивности у родительских форм по конкретным фазам онтогенеза.

*Ключевые слова:* плодовые культуры, груша, персик, сорта, продуктивность, фазовая селекция

# THEORY OF ECOLOGICAL-GENETIC STRUCTURE OF PRODUCTIVITY TRAITS OF PERENNIAL FRUIT CROPS AND NEW BREEDING TECHNOLOGIES

Dragavceva I. A.<sup>1</sup>, Dragavcev V. A.<sup>2</sup>, Klyukina A. V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Federal State Budgetary Scientific Institution "North Caucasian Federal Scientific Center for Horticulture, Viticulture and Winemaking"*

<sup>2</sup>*Federal State Budgetary Scientific Institution Agrophysical Research Institute*  
[ld@list.ru](mailto:ld@list.ru)

Modern research has shown that the productivity levels of agricultural crops (including fruit crops) are determined not only by gene properties, but also to a large extent by the effects of "genotype-environment interaction" (GEI). A theory of ecological- genetic organization of quantitative traits (TEGOQT, V.A. Dragavtsev et al., 1984) has been developed, which postulates: "The mechanism of GEI effects is a system of sets of gene products present in the cells of varieties and determining the same productivity trait when the lim-factor of the environment changes." The plasticity of ontogenesis of fruit crop varieties has been assessed based on the patterns of manifestation of their genotypes in the phenotype under changing environmental conditions. Algorithms for identifying "bottlenecks" in the resistance of varieties in specific development phases to temperature limits of the environment in the winter-spring period have been developed (based on TEGOQT) using pear and peach varieties as an example. Adaptability reserves in parental pairs have been identified for each of the development phases. Proposals are given for the selection of parental pairs for breeding fruit crops based on their resistance to environmental limits for each phase of ontogenesis. New methods for breeding fruit crops based on identifying adaptability reserves in parental forms for specific phases of ontogenesis are presented.

**Keywords:** fruit crops, pear, peach, varieties, productivity, phase selection

## ИЗУЧЕНИЕ КАСПАЗО-3-ПОДОБНОЙ ПРОТЕАЗЫ (DEVDAЗЫ) КАК ДЕТЕРМИНАНТЫ S-РНКАЗНОЙ САМОНЕСОВМЕСТИМОСТИ У *SOLANUM PENNELLII*

Захарова Е. В. , Ханина Т. П. , Голиванов Я. Ю.

ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии"

[zakharova\\_ekater@mail.ru](mailto:zakharova_ekater@mail.ru)

Три основных типа клеточной активности — деление, растяжение и запрограммированная гибель клеток (ПКС) определяют рост и развитие организма. ПКС у растений может различаться, но в целом имеет ряд общих черт, в частности, активацию каспазо-подобных протеаз (КПП), фрагментацию ДНК, высвобождение цитохрома с из митохондрий, генерацию активных форм кислорода и др. КПП являются наиболее типичными маркерами ПКС. КПП – группа эндонуклеаз, расщепляющих различные белки по остаткам аспарагиновой кислоты. В норме эти белки располагаются в центральной вакуоли; однако индукция ПКС приводит к деградации этой вакуоли и последующему высвобождению КПП и других литических ферментов в цитоплазму.

Ранее нами было показано, что в процессе гаметофитной самонесовместимости (СН) S-РНКазного типа у петунии пыльцевые трубки (ПТ) погибают в тканях пестика посредством ПКС, индуцированной СН. При этом наблюдается активация КПП в самонесовместимых ПТ. В настоящей работе получены схожие данные на другом модельном объекте, еще одном представителе семейства пасленовых самонесовместимом диком виде томатов *Solanum pennellii*. Активность КПП в живых ПТ визуализировали с помощью набора Image-iT™ LIVE Green Poly Caspases Detection Kit (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, США) с реагентом FLICA для обнаружения большинства каспаз (включая каспазы 1 и 3–9). Он также содержал йодид пропидия, краситель, который позволяет одновременно оценивать морфологию ядра и целостность плазматической мембраны. Прижизненная визуализация позволила нам обнаружить активность КПП в самонесовместимых ПТ томата. По некоторым данным, MAP-киназа активирует DEVDAзу и ремоделирует актиновый цитоскелет. Деградация актинового цитоскелета нарушает целостность плазматической мембраны и, возможно, разрушает вакуоль, тем самым высвобождая S-РНказы, далее происходит деградация ядерной ДНК, деградация клеточных органелл и ПКД.

Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (госзадание № FGUM-2022-0003).

## CASPASE-3-LIKE PROTEASE (DEVDASE) INVESTIGATION AS A DETERMINANT OF SRNASE SELF-INCOMPATIBILITY IN *SOLANUM PENNELLII*

Zakharova E. V. , Khanina T. P. , Golivanov Y. Y.

All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology  
[zakharova\\_ekater@mail.ru](mailto:zakharova_ekater@mail.ru)

Division, elongation, and programmed cell death (PCD) are three main types of cellular activity that determine the growth and development of an organism.

PCD in plants can vary but generally includes several common characteristics, involving the activation of caspase-like proteases (CLPs), DNA fragmentation, cytochrome c release from mitochondria, and the production of reactive oxygen species, etc. CLPs are the most typical markers of PCD. CLPs are a group of endonucleases that cleave various proteins at aspartic acid residues. Normally, these proteins are located in the central vacuole; however, the induction of PCD leads to the degradation of a vacuole and the subsequent release of CLPs and other lytic enzymes into the cytoplasm.

Previously, in our studies was demonstrated that in the process of S-RNase type gametophytic self-incompatibility (SI) in petunia, pollen tubes (PTs) die in pistil tissues through PCD induced by SI. During this process, activation of CLPs was observed in self-incompatible PTs. In the present work, similar data were obtained in *Solanum pennellii* the self-incompatible wild tomato species and another member of the *Solanaceae* family. The activity of CLPs in living PTs was visualized using the Image-iT™ LIVE Green Poly Caspases Detection Kit (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, USA) with FLICA reagent for detecting most caspases (including caspases 1 and 3-9). The kit also contained propidium iodide, a dye that allows simultaneous valuation of nuclear morphology and plasma membrane integrity. The *in vivo* visualization allowed us to detect CLP activity in the self-incompatible PTs of tomato. According to several studies, MAP kinase activates DEVDase and modifies the actin cytoskeleton. The degradation of the actin cytoskeleton disrupts the integrity of the plasma membrane and apparently destroys the vacuole, thereby releasing S-RNases, leading to nuclear DNA degradation, degradation of cellular organelles, and PCD.

This research was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (State Assignment No. FGUM-2022-0003).



## ДЛИТЕЛЬНОЕ СОХРАНЕНИЕ РАЗЛИЧНЫХ КУЛЬТУР В УСЛОВИЯХ ГЕНОБАНКА *IN VITRO*

Иванова Н. Н. , Корзина Н. В. , Гребенникова О. А. , Лесникова-Седошенко Н. П. ,  
Жданова И. В. , Челомбит С. В.

ФГБУН «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН», Россия, г. Ялта  
[nnivanova2017@yandex.ru](mailto:nnivanova2017@yandex.ru)

Одним из наиболее перспективных путей сохранения биоразнообразия растений в настоящее время является создание медленно растущих коллекций *in vitro*, когда замедление роста и сохранение жизнеспособности осуществляется путем использования низкой положительной температуры и введения в состав среды осмотиков и ретардантов. Условия длительного хранения *in vitro* при низкой положительной температуре часто вызывают стресс у большинства растений. Целью данного исследования было изучение влияния температуры и концентрации ретарданта в среде в условиях генобанка *in vitro* на жизнеспособность эксплантов изучаемых генотипов и проведение анализа динамики морфофизиологических и биохимических показателей микрорастений различных садовых культур на протяжении 12 месяцев депонирования.

В качестве эксплантов использовали верхушки побегов земляники садовой (*Fragaria × ananassa* Duchesne) сорта Белый Швед, розы садовой (*Rosa* L., Rosaceae) сортов Алиска и Наталья Муравская, лаванды узколистной (*Lavandula angustifolia* Mill.) сорта Синева, инжира (*Ficus carica* L., Moraceae) сортов Наираннейший Фиолетовый, Никитский 800 и Сабруция Розовая, эндемика флоры Крыма яснотка голая (*Lamium glaberrimum* (K. Koch) Taliev (Lamiaceae), полученные нами в условиях *in vitro*. Культивирование осуществляли на среде 1/4 MS, дополненной ретардантом хлорхолинхлоридом ССС (0,2–1,0 г/л) и 60 г/л сахарозы. Экспланты сохраняли в холодильной камере при температуре 4–10 °С и интенсивности освещения 1,25 мкМ м<sup>-2</sup> с<sup>-1</sup>. По завершении 12 месяцев депонирования измеряли длину побегов, количество листьев, корней. Динамику изменения биохимических показателей сравнивали у контрольных растений и у микрорастений инжира и розы, сохраняемых в холодильной камере 4, 8 и 12 месяцев. Анализировали содержание свободного пролина, аскорбиновой кислоты, а также активность пероксидаз.

Результаты наших исследований показали возможность длительного беспересадочного сохранения микропобегов и микрорастений в культуре *in vitro* в течение 12 месяцев. Установлены оптимальные температуры сохранения (роза, земляника – 6 °С, лаванда, инжир, яснотка голая – 8 °С) и концентрации ССС в среде 0,2 и 0,4 г/л. По окончании депонирования 96 % эксплантов на среде с регуляторами роста в стандартных условиях культивирования образовывали побеги нормальной морфологии. Наличие в среде для сохранения 0,6–1,0 г/л ССС вызывало появление у побегов в первом пассаже морфологических отклонений: оводненность, карликовость, различная форма листовой пластинки. Анализ биохимических показателей на протяжении 12 месяцев показал, что растения адаптировались к условиям хранения. Активность пероксидаз, значения пролина и аскорбиновой кислоты в течение 4, 8 месяцев увеличивались, затем стабилизировались. Это связано с защитными реакциями растительного организма, которые компенсируют негативное воздействие стрессовых условий хранения.

Работа выполнена по Госзаданию FNNS-2022-0002 ФГБУН «НБС-ННЦ» на оборудовании Уникальной научной установки «ФИТОБИОГЕН» (Ялта, Россия).

**Ключевые слова:** эксплант, депонирование, генобанк, осмотик, ретардант, *in vitro*, биохимический анализ

## LONG-TERM PRESERVATION OF VARIOUS CROPS IN THE CONDITIONS OF THE GENE BANK *IN VITRO*

Ivanova N. N., Korzina N. V., Grebennikova O. A., Lesnikova-Sedoshenko N. P., Zhdanova I. V., Chelombit S. V.

FSFIS "The Nikitsky Botanical Gardens – National scientific Center RAS", Yalta, Russia  
[nnivanova2017@yandex.ru](mailto:nnivanova2017@yandex.ru)

Nowadays one of the most promising ways to preserve plant biodiversity is to create slow-growing collections *in vitro*, when growth is slowed down and viability is maintained by using a low positive temperature and introducing osmotics and retardants into the culture medium. Long-term storage conditions *in vitro* at low positive temperatures often cause stress in most plants. The objective of this study was to study the effect of temperature and concentration of the retardant in the environment under *in vitro* genebank conditions on the viability of explants of the studied genotypes and to analyze the dynamics of morphophysiological and biochemical parameters of microplants of various horticultural crops during 12 months of deposition.

The shoot tips of strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Dushesne) cv. 'Bely Shved', roses (*Rosa* L., Rosaceae) cvs. 'Aliska' and 'Natalia Muravskaya', lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) cv. 'Sineva', common fig (*Ficus carica* L., Moraceae) cvs. 'Nayranneishy Fioletovy', 'Nikitsky 800' and 'Sabrutsia Rozovaya', endemic of the Crimean flora *Lamium glaberrimum* (K. Koch) Taliev (Lamiaceae) were used as explants and were obtained by us *in vitro*. Cultivation was carried out on a medium of ¼ MS supplemented with the retardant chlorcholin chloride (CCC, 0.2-1.0 g/l) and 60 g/l sucrose. Explants were stored in a refrigerating chamber at a temperature of 4-10 °C and a light intensity of 1.25 μm m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. At the end of 12 months of deposition, the length of shoots, the number of leaves, and roots were measured. The dynamics of changes in biochemical parameters were compared in control plants and in microplants of common fig and roses stored in a refrigerating chamber for 4, 8 and 12 months. The content of free proline, ascorbic acid, and peroxidase activity were analyzed.

The results of our research have shown the possibility of long-term continuous preservation of microshoots and microplants *in vitro* for 12 months. The optimal preservation temperatures (rose, strawberry – 6 °C, lavender, common fig, *L. glaberrimum* – 8 °C) and CCC concentrations in the medium of 0.2 and 0.4 g/l were established. Upon completion of deposition, 96% of explants formed shoots of normal morphology on a medium with growth regulators under standard cultivation conditions. The presence of 0.6 – 1.0 g/l CCC in the medium for preservation caused morphological deviations in the shoots in the first subculture: hyperhydricity, dwarfism, different leaf blade shape. The analysis of biochemical parameters over the course of 12 months showed that the plants adapted to the storage conditions. The activity of peroxidases, the values of proline and ascorbic acid increased for 4 and 8 months, then stabilized. This is due to the protective reactions of the plant organism, which compensate for the negative effects of stressful storage conditions.

This study was funded by the SA FNNS-2022-0002 of the FSFIS "NBG-NSC" on the basis of the Unique Scientific Installation "PHYTOBIOGEN" (Yalta, Russia).

**Keywords:** explant, deposition, genebank, osmotic, retardant, *in vitro*, biochemical analysis

## **АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ФОРМИРОВАНИЯ БИОРЕСУРСНЫХ КОЛЛЕКЦИЙ В БОТАНИЧЕСКИХ САДАХ ВУЗОВ (ИЗ ОПЫТА РАБОТЫ БОТАНИЧЕСКОГО САДА САМАРСКОГО УНИВЕРСИТЕТА)**

**Кавеленова Л. М. , Роголева Н. О. , Розно С. А. , Помогайбин А. В. , Янков Н. В.**

*ФГБОУ АО «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королёва»*  
[lkavelenova@mail.ru](mailto:lkavelenova@mail.ru)

Существующие много веков ботанические сады традиционно определяют как «место с упорядоченной, документированной, маркированной коллекцией живых растений, которая открыта для широкой публики, с коллекциями, используемыми в основном для исследований и образования» (Watson e.a., 1993). Сегодня в РФ действует 120 ботанических садов, из них 77 – подведомственные Министерству науки и высшего образования РФ, включая 46 ботанических садов университетов. Формирование биоресурсных коллекций живых растений, как главная задача сада, последовательно решалась коллективом в течение 90 лет. В настоящее время коллекционные фонды включают более 4,5 тысяч таксонов (видов, форм, сортов), в том числе 1338 таксонов в дендрологической коллекции (деревьев, кустарников, древесных лиан и плодовых растений, в том числе 255 - охраняемых); 1240 таксонов в коллекции тропических и субтропических растений в оранжерее (из них 326 видов, внесенных в The IUCN Red List of Threatened Species); 1115 таксонов в коллекции травянистых растений природной флоры (включая 416 видов растений различных категорий редкости) и 871 таксон в коллекции цветочно-декоративных многолетников. Коллекции растений использовались как база для проведения научных исследований, источник перспективных полезных растений для внедрения в сельское, лесное хозяйство, зеленое строительство региона, а также в образовательной и просветительной деятельности. Особую роль сыграло сохранение *ex situ* редких растений природной флоры, позволившее проводить успешные работы по реинтродукции. В последнее время спектр наших биоресурсных коллекций расширился. Начиная с 2020 г. Ботанический сад участвует в формировании банка семян редких растений природной флоры и перспективных интродуцентов. К началу 2024 г. В семенном банке находится 90 задокументированных образцов семян, относящихся к 44 таксонам семенных растений (включая 25 местных раритетных видов).

Формирование биоресурсных коллекций в природных условиях экотона (лесостепь Среднего Поволжья) периодически сталкивается с объективными затруднениями в силу особенностей погодных условий. К проблемам субъективного характера в первую очередь стоит отнести отсутствие целевого финансирования ботанических садов вузов, «высоко затратных» подразделений, нуждающихся в значительном вложении материальных ресурсов и требующих дополнительной численности персонала. Необходимость для одних и тех же сотрудников совмещать научную работу с уходом за коллекциями и территорией, проведением экскурсий, организацией волонтерской работы и пр. замедляет темпы достижения ими поставленных целей. Коллекции растений требуют охраны от расхищения, а в случае открытости территории для посетителей – от их вандализма. Недостаточное понимание различными слоями общества значимости коллекционных фондов ботанических садов вузов как уникального достояния страны требует признания за ними особого статуса, на что мы возлагаем надежды в связи с разработкой закона о биоресурсных коллекциях.

## CURRENT PROBLEMS OF FORMING BIORESOURCE COLLECTIONS IN BOTANICAL GARDENS OF UNIVERSITIES (FROM THE EXPERIENCE OF THE BOTANICAL GARDEN OF SAMARA UNIVERSITY)

Kavelenova L. M. , Rogulyova N. O. , Rozno S. A. , Pomogaybin A. V. , Yankov N. V.

*Samara National Research University*  
[lkavelenova@mail.ru](mailto:lkavelenova@mail.ru)

Botanical gardens, which have existed for many centuries, are traditionally defined as "a place with an ordered, documented, labeled collection of living plants that is open to the general public, with collections used primarily for research and education" (Watson et al., 1993). Today, there are 120 botanical gardens in the Russian Federation, 77 of which are subordinate to the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, including 46 university botanical gardens. The formation of bioresource collections of living plants, as the main task of the garden, has been consistently solved by the team for 90 years. At present, the collection funds include more than 4.5 thousand taxa (species, forms, varieties), including 1338 taxa in the dendrological collection (trees, shrubs, woody vines and fruit plants, including 255 protected); 1240 taxa in the collection of tropical and subtropical plants in the greenhouse (including 326 species included in the IUCN Red List of Threatened Species); 1115 taxa in the collection of herbaceous plants of the natural flora (including 416 plant species of various rarity categories) and 871 taxa in the collection of floral and ornamental perennials. The plant collections were used as a basis for scientific research, a source of promising useful plants for introduction into agriculture, forestry, green construction of the region, as well as in educational and educational activities. A special role was played by the ex situ conservation of rare plants of the natural flora, which made it possible to carry out successful reintroduction work. Recently, the range of our bioresource collections has expanded. Since 2020, the Botanical Garden has been participating in the formation of a seed bank of rare plants of the natural flora and promising introducers. By the beginning of 2024, the seed bank contains 90 documented seed samples belonging to 44 taxa of seed plants (including 25 local rare species).

Formation of bioresource collections in the natural conditions of the ecotone (forest-steppe of the Middle Volga region) periodically faces objective difficulties due to the peculiarities of weather conditions. The problems of a subjective nature primarily include the lack of targeted funding for university botanical gardens, "highly expensive" divisions that require significant investment of material resources and require additional personnel. The need for the same employees to combine scientific work with care for collections and the territory, conducting excursions, organizing volunteer work, etc. slows down the pace of achieving their goals. Plant collections require protection from theft, and in the case of open territory for visitors - from their vandalism. The lack of understanding by various layers of society of the importance of the collection funds of university botanical gardens as a unique asset of the country requires recognition of their special status, which we hope will be achieved in connection with the development of the law on bioresource collections.

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ ДЛЯ ПАСПОРТИЗАЦИИ  
КОЛЛЕКЦИИ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ НА ПРИМЕРЕ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ Р.  
SYRINGA И RHODODENDRON L.**

**Креницына А. А., Чурикова О. А.**

ФГБОУ высшего образования «Московский государственный университет имени М. В.  
Ломоносова»  
[ankrina@gmail.com](mailto:ankrina@gmail.com)

Одним из важнейших источников адаптивно значимых и хозяйственно ценных признаков являются коллекции видов, форм и сортов живых растений *in vivo* и *in vitro*. Сохранение существующего генофонда растений необходимо, например, из-за того, что меняющиеся условия окружающей среды и возникновение ряда биотических и абиотических стрессовых факторов, обусловленные хозяйственной деятельностью человека, оказывают существенное влияние на генотип и метаболизм сортов, что приводит к их "старению" и перерождению, а также непосредственной гибели культур. Для контроля процесса включения нового образца в коллекцию во избежание предотвращения дублирования, а также для прослеживания генетического единообразия получаемых клонов, анализа родства сохраняемых генотипов, установления внутривидовых связей активно используются молекулярно-генетические методы, при помощи которых создаются молекулярно-генетические паспорта коллекционных образцов. При необходимости с использованием методов молекулярного баркодинга проводят дополнительную верификацию систематической принадлежности того или иного растения, уточняют происхождение той или иной гибридной формы.

Для паспортизации сортовых коллекций, в том числе и высокодекоративных древесных культур, применяют различные техники маркирования геномов, основанные на полимеразной цепной реакции (ПЦР), такие как RAPD, AFLP, SSRs, ISSR и др. Как правило, используют несколько типов маркерных участков, комбинируя их в различных сочетаниях, дающих наилучшие результаты в зависимости от культуры. До сих пор остается актуальной оценка применимости новых вариантов маркерных участков как самостоятельно, так и в сочетании с уже проверенными. Например, для создания молекулярно-генетических паспортов сортов сирени в сирингариях используют комбинацию RAPD и ISSR праймеров. Нами была показана возможность использования системы SRAP-маркеров, которая ранее хорошо себя зарекомендовала при работе с представителями сортов сем. *Rosaceae*, *Peoniaceae*, *Oleaceae*. При оценке молекулярных профилей 12 сортов сирени из различных садовых групп, полученных с использованием семи комбинаций прямых и обратных SRAP-праймеров было выявлено пять пар, использование которых позволяет уверенно разделить исследованные сорта сирени обыкновенной. Эти же праймеры оказались пригодными для прослеживаемости генетической идентичности получаемых в процессе микроклонального размножения растений-регенерантов сирени.

При прослеживаемости генетической однородности в процессе клонального микроразмножения особое внимание необходимо уделять группам, для которых характерно наличие большого количества естественных гибридных форм. Примером может служить род *Rhododendron L.*, систематика которого сложна и до сих пор окончательно не разработана, а в природе среди чистых видов встречается большое количество естественных гибридов. Для многих высокодекоративных форм нет данных о том, как именно они сформировались. Так, для одного такого гибридного рододендрона из коллекции ГБС с неясным происхождением была показана возможность использования ISSR, RAPD и SRAP маркеров для оценки идентичности растений, полученных в стерильной культуре и исходной формы.

Работа выполнена в рамках ГЗ МГУ имени М.В. Ломоносова №121032500082-2

THE USAGE OF MOLECULAR MARKERS TO CERTIFY A COLLECTION OF WOODY PLANTS ON THE EXAMPLE OF GENERA SYRINGA AND RHODODENDRON L. REPRESENTATIVES.

Krinitsina A. A. , Churikova O. A.

*Lomonosov Moscow State University*  
[ankrina@gmail.com](mailto:ankrina@gmail.com)

One of the most important sources of adaptively significant and economically valuable traits are collections of species, forms and varieties of living plants *in vivo* and *in vitro*. Preservation of the existing gene pool of plants is necessary, for example, due to the fact that changing environmental conditions and the emergence of a number of biotic and abiotic stress factors caused by human economic activity have a significant impact on the genotype and metabolism of varieties, which leads to their "aging" and degeneration, and to the direct death of crops at least. To control the process of including a new sample in a collection in order to avoid duplication, to track the genetic uniformity of the resulting clones, analyze the relationship of the preserved genotypes, and establish intraspecific relationships as well as, molecular genetic methods are actively used, with the help of which molecular genetic passports of collection samples are created. If necessary, with using molecular barcoding methods additional verification of the systematic affiliation of a particular plant is carried out, and the origin of a particular hybrid form is clarified.

For the certification of varietal collections, including highly decorative woody crops, various genome marking techniques based on the polymerase chain reaction (PCR) are used, such as RAPD, AFLP, SSRs, ISSR, etc. As a rule, several types of marker sites are used. Combining them in various combinations gives the best results depending on the crop. It is still relevant to assess the applicability of new variants of marker sites both independently and in combination with those already tested. For example, a combination of RAPD and ISSR primers is used to create molecular genetic passports of lilac varieties in syringaria. We have shown the possibility of using the SRAP marker system, which has previously proven itself well when working with representatives of varieties of *Rosaceae*, *Peoniaceae* and *Oleaceae* families. When evaluating the molecular profiles of 12 lilac varieties from different garden groups obtained using seven combinations of forward and reverse SRAP primers, five pairs were identified, the use of which allows us to confidently separate the studied varieties of common lilac. The same primers turned out to be suitable for tracing the genetic identity of lilac regenerated plants obtained during microclonal propagation. When tracing genetic homogeneity in the process of clonal micropropagation, special attention should be paid to groups that are characterized by the presence of a large number of natural hybrid forms. An example is the genus *Rhododendron L.*, the taxonomy of which is complex and has not yet been fully developed. In nature, there are a large number of natural hybrids among pure species. For many highly decorative forms, there is no data on how exactly they were formed. Thus, for one such hybrid rhododendron from the MBG of RAS collection with unclear origin, the possibility of using ISSR, RAPD and SRAP markers to assess the identity of plants obtained in sterile culture and the original form was demonstrated.

This work was carried out in accordance to Government order for the Lomonosov Moscow State University (project No.121032500082-2).

## ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ *ALLIUM ATROSANGUINEUM* SHRENK, ПРОИЗРАСТАЮЩЕГО В УСЛОВИЯХ ВЫСОКОГОРИЙ ТЯНЬ-ШАНЯ НА ОСНОВАНИИ ISSR МАРКЕРОВ И СТРУКТУРЫ ЛИСТА

Креницына А. А.<sup>1</sup>, Чурикова О. А.<sup>1</sup>, Антипин М. И.<sup>2</sup>, Омельченко Д. О.<sup>3</sup>,  
Сперанская А. С.<sup>4</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова»

<sup>2</sup> НОЦ "Ботанический сад Петра I" биологического факультета МГУ

<sup>3</sup> Институт проблем передачи информации имени А. А. Харкевича РАН

<sup>4</sup> НИИ «Институт системной биологии и медицины Роспотребнадзора»  
[ankrina@gmail.com](mailto:ankrina@gmail.com)

Род Лук (*Allium L.*) - один из крупнейших среди однодольных, по современным оценкам в его состав входит более 850 видов. Представители этого рода распространены преимущественно в Северном полушарии и освоили самые разнообразные ниши от тундр до умеренных и субтропических лесов, от переувлажненных альпийских лугов до степей и пустынь. В зависимости от условий произрастания у растений формируются определенные структурные изменения, в том числе и в анатомической структуре листовых пластинок, которые позволяют адаптироваться им к тем или иным внешним условиям. Морфолого-анатомические признаки не всегда могут отражать генетическое разнообразие представителей различных популяций. Для различных видов рода *Allium* использовали различные молекулярные маркеры, позволяющие оценить гетерогенность геномов, например, RAPD и ISSR. Лук черно-красный *Allium atrosanguineum* Schrenk - один из широко распространенных видов луков в районах Киргизии, Казахстана, Таджикистана и Синьцзяна, обитающий в условиях высокогорья (2400–5400 м. над ур. моря) во влажных местах – лугах, берегах рек и ручьев, высокогорных болотах. Условия высокогорий характеризуются резкими сменами погодных условий, повышенным уровнем ультрафиолетовой радиации, что не может не оказывать влияние как на анатомо-морфологические, так и на генетические особенности растений. Однако данных по морфолого-анатомическому строению *A. atrosanguineum*, а также по генетической структуре популяций из высокогорных районов Тянь-Шаня в известной нам литературе, к сожалению, не встретилось.

На основании анализа данных анатомической структуры листовых пластинок растений *A. atrosanguineum* из трех популяций, отличающихся габитусом и условиями произрастания: разные берега (левый (1 группа) и правый (2 группа)) реки, протекающей в ущелье, на высоте 2735 м, а также верхняя часть сухого ущелья (3 группа), отходящего от правого берега реки, на высоте 3060 м) было показано наличие различий: растения, произрастающие на левом берегу реки (группа 1) имели наибольшее число проводящих пучков и минимальную толщину кутикулы и клеточных стенок клеток эпидермиса. Растения с правого берега реки (группа 2) наоборот имели минимальное количество проводящих пучков и наибольшую толщину кутикулы, и толщину внутренней и внешней клеточных стенок клеток эпидермиса. Скорее всего, это связано с различной степенью доступности почвенной влаги для растений из изученных мест обитания.

При анализе генетической однородности популяций с использованием ISSR маркеров из 6 протестированных были отобраны 4, давшие наилучший результат. При проведении анализа методом главных координат было показано, что образцы дифференцировались по местам сбора – отдельно сформировалась и несколько обособилась группа образцов, собранных на левом берегу реки (популяция 1). Образцы из 2 (правый берег) и 3 популяций (ущелье) сформировали две группы, частично перекрывающиеся между собой. На основании кластерного анализа также было показано разделение образцов на три группы, две из которых (часть растений, собранных с правого берега (2 популяция) и растения из сухого ущелья (3 популяция)) формировали общую группу. Вероятно, исходно это была одна популяция, которая со временем начала делиться на две обособленные.

Работа выполнена в рамках ГЗ МГУ имени М.В.Ломоносова №121032500082-2 и 121031600194-4.

ESTIMATES OF GENETIC DIVERSITY IN *ALLIUM ATROSANGUINEUM* SCHRENK HIGH ALTITUDE POPULATIONS OF TIAN SHAN BASED ON ISSR MARKERS AND LEAF ANATOMICAL CHARACTERS

Krinitsina A. A.<sup>1</sup>, Churikova O. A.<sup>1</sup>, Antipin M. I.<sup>2</sup>, Omelchenko D. O.<sup>3</sup>, Speranskaia A. S.<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Lomonosov Moscow State University

<sup>2</sup> Scientific and Educational centre "Peter the Great botanical garden"

<sup>3</sup> Institute for Information Transmission Problems

<sup>4</sup> Scientific Research Institute for Systems Biology and Medicine, Federal Service on Consumers' Rights Protection and Human Well-Being Surveillance  
[ankrina@gmail.com](mailto:ankrina@gmail.com)

Genus *Allium* is among the largest monocot genera, comprising more than 850 species according to modern views. Species of this genus mostly inhabit the Northern Hemisphere and evolved to fit a great variety of niches from Arctic tundra to temperate and subtropical forests, from wet alpine and riparian meadows to arid steppes and deserts. Abiotic and biotic factors, specific to certain habitats, have large impact on morphology and anatomy of plant vegetative organs, leading to structural changes, some of which are just modification variability but others become genetically fixed as the evolution goes. Yet morphology and anatomy data do not always reflect adequately the levels of genetic diversity within natural populations. To estimate the heterogeneity of genomes in several *Allium* species various molecular markers were suggested earlier, among them RAPDs and ISSRs.

*Allium atrosanguineum* Schrenk is an *Allium* species widely distributed in Central Asia (Kyrgyzstan, Kazakhstan, Tajikistan and Xinjiang), mostly inhabiting wet and riparian habitats (meadows, bogs, river banks, creek beds) at high altitudes (2400- 5400m). High altitude habitats are known to experience harsh climatic factors like contrasting temperatures, fast weather changes and high levels of UV light, which certainly have an impact on morphology, anatomy and genetics of plants adapted to these habitats. Yet we did not success in finding data on morphology and anatomy of *A. atrosanguineum* or data on genetic structure of *Allium* populations of high altitude regions of Tian Shan.

We have analyzed leaf anatomy data for *A. atrosanguineum* specimens sampled from 3 populations differing in habitat type (left (1) and right (2) river banks at 2735m, and an upper part of a temporarily dry creek bed (3) upstream the right river bank at 3060 m) and plant habit, and demonstrated considerable differences between the populations: plants from population 1 (left bank) had the largest number of leaf vascular bundles and thinnest inner and outer walls of epidermal cells while plants in population 2 (right bank) had the smallest number of leaf vascular bundles and the thickest cuticle and inner and outer walls of epidermal cells. We assume that the differences are most likely due to different amounts of soil moisture available to plants of studied habitats.

To perform an analysis of genetic heterogeneity of populations in this study we tested 6 ISSR markers of which we selected 4 as the most informative. Principal coordinates analysis has shown that samples were grouped according to their collection locations – samples from population 1 (left bank) grouped together and somewhat separate. Samples from populations 2 and 3 (right bank and creek bed upstream the right bank) formed two groups that overlapped to some extent. Results of cluster analysis also showed that samples form three groups, two of which (certain samples from right bank together with samples from dry creek upstream) together form a single supergroup. We suppose that this group was a continuous population once that eventually started to divide into two separate ones.

This work was carried out in accordance to Government order for the Lomonosov Moscow State University (project No.121032500082-2 and 121031600194-4).



## ИЗУЧЕНИЕ АРХИТЕКТониКИ КОЛОСА ПШЕНИЦ И ЕГО КОМПЬЮТЕРНОЕ ФЕНОТИПИРОВАНИЕ

Кручинина Ю. В.

ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН  
[kruchinina2023@yandex.ru](mailto:kruchinina2023@yandex.ru)

Процесс фенотипирования (быстрая и корректная оценка морфологических параметров растений), тесно ассоциированный с классификацией видов, является одной из основополагающих задач в ходе выполнения селекционно-генетических экспериментов. В настоящее время используется ряд подходов для повышения эффективности фенотипирования колосьев пшеницы: реализация технологий анализа цифровых изображений, применение алгоритмов машинного обучения для обработки, а также устройство хранения информации в цифровых коллекциях.

**Цель работы:** изучить таксономически значимые (классификационные) признаки у пшениц разного уровня ploидности, проанализировать их наследование и создать на их основе базу данных (БД) цифровых изображений рода *Triticum* L. для их классификации.

Для осуществления выше поставленной цели, из коллекции сектора генетики пшениц ИЦиГ СО РАН (г. Новосибирск) была взята для исследования пшеница разного уровня ploидности (ди-, тетра-, гекса-, окта- и декаploидная). В связи с тем, что не все видоспецифические признаки могут служить модельными для построения БД, был проведен гибридологический анализ тетраploидных видов пшеницы для анализа наследования классификационных признаков. Получено более 50 форм F<sub>1</sub> гибридов и более 20 форм F<sub>2</sub> гибридов. Посредством применения метода хи-квадрат ( $\chi^2$ ) оценивались гипотезы о характере наследования признаков.

К данному моменту времени процесс машинного обучения направлен на фенотипирование по признаку формы колоса. Однако, существуют и другие таксономически значимые признаки, посредством которых можно было бы производить распределение цифровых изображений колосьев не только по уровню ploидности, но и по видам, а именно: ветвистоколосость, полоникумность, тетраостость, круглозёрность и др.

Работа выполнена при поддержке РНФ, проект № 23-14-00150

## STUDYING THE ARCHITECTONICS OF A WHEAT SPIKE AND IT'S COMPUTER PHENOTYPING

Kruchinina Y. V.

*Institute of cytology and genetics SB RAS*  
*kruchinina2023@yandex.ru*

The process of phenotyping (rapid and correct assessment of morphological parameters of plants), closely associated with the classification of species, is one of the fundamental tasks in the course of performing breeding and genetic experiments. Currently, a variety of approaches is being used to improve the efficiency of wheat spike phenotyping: the implementation of digital image analysis technologies, the use of machine learning algorithms for processing, as well as the storage of information in digital collections.

The aim of the work is to study taxonomically significant (classification) characters in wheat of different levels of ploidy, analyze their inheritance and create on their basis a database of digital images of the genus *Triticum L.* to classify them.

To achieve the above goal, wheat of different ploidy levels (di-, tetra-, hexa-, octa- and decaploid) was taken from the collection of the wheat genetics sector of the ICiG SB RAS (Novosibirsk) for research. Due to the fact that not all species-specific features can serve as models for building a database, a hybridological analysis of tetraploid wheat species was carried out to analyze the inheritance of classification features. More than 50 forms of F<sub>1</sub> hybrids and more than 20 forms of F<sub>2</sub> hybrids have been obtained. Hypotheses about the nature of inheritance of traits were evaluated using the chi-square ( $\chi^2$ ) method.

At this point in time, the machine learning process is aimed at phenotyping based on the shape of the ear. However, there are other taxonomically significant signs by which it would be possible to distribute digital images of spikes not only according to the level of ploidy, but also by species, namely: branchiness, polonicity, tetraost, roundness, etc.

The work was carried out with the support of the RSF, project No. 23-14-00150.

**БИОРЕСУРСНЫЕ КОЛЛЕКЦИИ ФИЦ СНЦ РАН: СОХРАНЕНИЕ, ИЗУЧЕНИЕ, ИСПОЛЬЗОВАНИЕ****Кулян Р. В., Рындин А. В., Слепченко Н. А.***Федеральный исследовательский центр «Субтропический научный центр Российской академии наук»**[raisa.kulyan22@gmail.com](mailto:raisa.kulyan22@gmail.com)*

В современном мире биоресурсные коллекции имеют первостепенное значение в научных исследованиях (биологических, генетических, медицинских, экологических и др.). Существенную роль коллекции играют в вопросах продовольственной безопасности, создании комфортного пространства. В Субтропическом научном центре РАН создание генофонда связано с образованием в 1894 г. Сочинской сельскохозяйственной и садовой опытной станции. В настоящее время он представлен разнообразными субтропическими, южными плодовыми, семечковыми, орехоплодными, декоративными культурами и чаем, а также лекарственными растениями, редкими, эндемичными видами природной флоры. Биоразнообразие объединено в 20 коллекций и насчитывает 2 800 сортообразцов. Субтропические, южные плодовые и орехоплодные культуры включают семь коллекций, цветочно-декоративные – 13. По видовому разнообразию наиболее широко представлена коллекция цитрусовых культур, включающая лимоны, мандарины, грейпфруты, апельсины, лаймы, бигарадии, юносы, шеддоки, кинканы, лиметты, каламондины и другие редкие виды, всего 144 сортообразца, в том числе 10 сортов селекции Центра. Субтропические плодовые культуры: хурма (27), гранат (26), унаби (21), азимины (19), актинидия (14), фейхоа (13), инжир (7) содержат как интродуцированные, так и сорта отечественной селекции, в том числе Центра: актинидии (2), хурмы (3), фейхоа (3), азимины (4). Субтропические технические культуры представлены лавром (4) и чайным растением (29, из которых 6 селекции Центра). Коллекция орехоплодных наибольшая по численности (233 сортообразца), включает лещину, фундук, грецкий и чёрный орех, каштан и пекан, в составе коллекции содержится 10 сортов фундука селекции Центра. Косточковые: персик (69), слива (12), алыча (14) и семечковые: яблоня (69) и груша (39) являются востребованными культурами для Юга России, включают 1 сорт персика, 2 – яблони, 3 – груши селекции Центра. Самой обширной среди цветочно-декоративных культур является коллекция многолетних травянистых цветковых культур и насчитывает 453 сортообразца и включает 21 род, в том числе гемерокаллис, анемона, гербера, пион, ранункулюс и др. Коллекция луковичных и клубнелуковичных культур включает представителей 31 рода и насчитывает 319 сортообразцов. Коллекция ирисов насчитывает 278 сортообразцов, пеларгонии – 156, роз – 98, хризантем – 54. Коллекция красивоцветущих и декоративно-лиственных кустарников включает 34 рода, 168 сортообразцов, в том числе гидрангеи (37), гибискуса (32), олеандра (17), вейгелы (13), хеномелиса (8) и др. В составе коллекции древесно-кустарниковых растений, лиан и пальм содержится представители 100 родов (158 сортообразцов). Коллекция декоративных культур для внутреннего озеленения представлена растениями, устойчивыми к затенению и воздушной засухе и насчитывает 150 сортообразцов. Важное значение имеет коллекция редких, исчезающих, эндемичных видов природной флоры, включающая 83 сортообразца из 73 родов. Коллекция суккулентов состоит из 77 сортообразцов, лекарственных растений – 27. Обширный генофонд цветочно-декоративных культур включает более 110 сортов селекции Центра, в том числе пеларгонии крупноцветковой и курчавой, фрезии, анемоны, хризантемы, герберы, тюльпана, гиппеаструма). Уникальные генетические коллекции ФИЦ СНЦ РАН сохраняются и поддерживаются в живом виде, на базе которых выделены источники ценных признаков (45 – плодовых (цитрусовые культуры, хурма, фейхоа, груша, актинидия) и 61 – цветочных (пеларгония, фрезия, хризантема, тюльпан, анемона, гербера, гиппеаструм)), созданы новые устойчивые сорта, проводятся исследования по введению в культуру, усовершенствуются и реализуются методы и приёмы размножения и технологические вопросы выращивания растений. Разрабатываются новые конструктивные методы изучения и оценки мирового разнообразия субтропических, южных плодовых и цветочно-декоративных культур.

Публикация подготовлена в рамках реализации государственного задания ФИЦ СНЦ РАН FGRW-2024-0003, № госрегистрации 122040700985-0-4.1.1;4.1.5.

*Ключевые слова:* биоресурсные коллекции, интродукция, субтропические, южные плодовые, цветочно-декоративные культуры.

BIORESOURCE COLLECTIONS OF THE FEDERAL RESEARCH CENTER "SUBTROPICAL SCIENTIFIC CENTER OF THE RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES": CONSERVATION, STUDY, AND UTILIZATION

Kulyan R. , Ryndin A. , Slepchenko N.

*Federal Research Centre the Subtropical Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences*  
[raisa.kulyan22@gmail.com](mailto:raisa.kulyan22@gmail.com)

In the modern world, bioresource collections play a pivotal role in scientific research across various fields, including biology, genetics, medicine, and ecology. These collections are crucial for food security and creating a sustainable environment.

The establishment of the gene pool at the Subtropical Scientific Center of the Russian Academy of Sciences traces back to the founding of the Sochi Agricultural and Horticultural Experimental Station in 1894. Today, the collection encompasses a wide range of subtropical, southern fruit, pome, nut-bearing, ornamental plants, tea crops, medicinal plants, as well as rare and endemic species of natural flora. The biodiversity is grouped into 20 collections, comprising a total of 2,800 varietal samples. Subtropical, southern fruit, and nut-bearing crops form seven collections, while ornamental plants include 13 collections.

Among the species diversity, the citrus collection is the most extensive, containing lemons, mandarins, grapefruits, oranges, limes, bitter oranges, yuzu, pomelos, kumquats, limettas, calamondins, and other rare species, totaling 144 varietal samples, including 10 varieties developed by the Center. Subtropical fruit crops such as persimmon (27), pomegranate (26), jujube (21), pawpaw (19), kiwifruit (14), feijoa (13), and fig (7) include both introduced and domestically bred varieties, with the Center's breeding programs contributing to the development of varieties of kiwifruit (2), persimmon (3), feijoa (3), and pawpaw. Subtropical technical crops include laurel (4) and tea plants (29, of which 6 are Center-bred). The nut-bearing collection is the largest, comprising 233 varietal samples of hazelnut, walnut, black walnut, chestnut, and pecan, including 10 Center-bred hazelnut varieties. Stone fruit crops such as peach (69), plum (12), cherry plum (14), and pome fruits like apple (69) and pear (39) are essential for southern Russia and include 1 peach variety, 2 apple varieties, and 3 pear varieties developed by the Center.

The most extensive ornamental plant collection is the perennial herbaceous flowering plants, comprising 453 varietal samples across 21 genera, including *Hemerocallis*, *Anemone*, *Gerbera*, *Paeonia*, *Ranunculus*, and others. The bulbous and tuberous plant collection contains 319 varietal samples representing 31 genera. The iris collection contains 278 varietal samples, pelargoniums – 156, roses – 98, and chrysanthemums – 54. The collection of flowering and ornamental shrubs consists of 34 genera and 168 varietal samples, including *Hydrangea* (37), *Hibiscus* (32), *Oleander* (17), *Weigela* (13), and *Chaenomeles* (8), among others. The woody plants, lianas, and palm collection includes representatives of 100 genera (158 varietal samples). The collection of ornamental indoor plants, which are resistant to low light and air dryness, comprises 150 varietal samples. The collection of rare, endangered, and endemic species of natural flora holds 83 varietal samples from 73 genera. The succulent collection consists of 77 varietal samples, and the medicinal plants collection includes 27 varietal samples. The extensive gene pool of ornamental flowering plants includes over 110 varieties bred by the Center, such as large-flowered and curly-leaved *Pelargonium*, *Freesia*, *Anemone*, *Chrysanthemum*, *Gerbera*, and *Tulip*, as well as *Hippeastrum*.

The unique genetic collections of the FRC "Subtropical Scientific Center of the RAS" are preserved and maintained in a living state, providing valuable resources for the identification of desirable traits (45 fruit crops including citrus, persimmon, feijoa, pear, and kiwifruit; and 61 floral crops including pelargonium, freesia, chrysanthemum, tulip, anemone, gerbera, and *Hippeastrum*). These collections have enabled the development of new resistant varieties, as well as research into crop introduction and the refinement and implementation of propagation methods and cultivation technologies. New approaches are being developed to study and assess the global diversity of subtropical, southern fruit, and ornamental plants.

The study was funded by the state assignment research of FRC SSC RAS FGRW-2024-0003, project No. 124022000093-1.

**Keywords:** bioresource collections, introduction, subtropical, southern fruit, ornamental plants.

**РОЛЬ ГЕНОВ CLE, BAM И TDR У КАРТОФЕЛЯ (SOLANUM TUBEROSUM L.)****Лосев М. , Ганчева М.***Санкт-Петербургский государственный университет  
[maximlosev2001@mail.ru](mailto:maximlosev2001@mail.ru)*

Картофель является важной сельскохозяйственной культурой, клубни которой активно используются в пищу по всему миру. Клубнеобразование у картофеля – это сложный тонко регулируемый процесс, на который влияет множество внешних и внутренних факторов, например, наличие воды и фитогормоны.

Пептидные гормоны CLE вовлечены во множество процессов в организме растений. У арабидопсиса сигналинг CLE с участием рецептора TDR активирует деление клеток камбия и регулирует образование ксилемы, а пептид CLE25 и его рецепторы BAM участвуют в регуляции дифференцировки флоэмы и формируют ответ на нехватку воды. Мы предположили, что гены CLE, BAM и TDR могут выполнять схожие функции у картофеля.

Среди CLE пептидов у картофеля наибольшее сходство с CLE25 арабидопсиса имеют гормоны StCLE6 и StCLE19. Однако по данным нашей лаборатории в условиях нехватки воды у картофеля увеличивается относительный уровень экспрессии гена StCLE23, что делает его главным кандидатом на роль регулятора ответа на нехватку воды. Для определения функций генов StCLE23, а также StCLE6 и StCLE19, мы работаем над получением растений со сверхэкспрессией этих генов.

Также мы изучаем гены StBAM и StTDR картофеля, кодирующие рецепторы пептидов CLE. Мы проанализировали транскриптомные данные из литературных источников и выявили накопление транскриптов генов StBAM и StTDR в органах и тканях картофеля. Чтобы выяснить функции генов StBAM и StTDR в развитии картофеля, мы используем метод редактирования генома CRISPR-Cas9. Нами получены растения с отредактированными аллелями генов StBAM2 и StTDR2. Продолжается работа по получению растений с отредактированными аллелями других генов StBAM и StTDR.

Работа поддержана Министерством науки и высшего образования РФ в соответствии с соглашением № 075-15- 2022-322 от 22.04.2022 о предоставлении гранта в виде субсидии из федерального бюджета РФ.

THE ROLE OF THE *CLE*, *BAM* AND *TDR* GENES IN POTATO (*SOLANUM TUBEROSUM* L.)

Losev M. , Gancheva M.

*Saint Petersburg State University*  
*[maximlosev2001@mail.ru](mailto:maximlosev2001@mail.ru)*

Potato is a crucial agricultural crop, with its tubers widely consumed as a food source around the world. Tuber formation in potato is a complex and finely regulated process, influenced by numerous exogenous and endogenous factors, such as water availability and phytohormones.

Peptide hormones of the *CLE* family are involved in various processes within plant organisms. In *Arabidopsis*, *CLE* signaling through the *TDR* receptor activates cambial cell division and regulates xylem formation, while the *CLE25* peptide and its *BAM* receptors regulate phloem differentiation and form a response to water deficiency. We hypothesized that the *CLE*, *BAM*, and *TDR* genes might perform similar functions in potato.

Among the *CLE* peptides in potato, *StCLE6* and *StCLE19* show the greatest similarity to *Arabidopsis CLE25*. However, according to our data, under water deficit conditions, there is an increase in the relative expression level of the *StCLE23* gene in potato, making it a primary candidate as a regulator of the water deficiency response. To determine the functions of the *StCLE23*, *StCLE6*, and *StCLE19* genes, we are working on generating plants with overexpression of these genes.

We are also studying the potato *StBAM* and *StTDR* genes, which encode receptors for *CLE* peptides. We have analyzed transcriptomic data from the literature and identified the accumulation of *StBAM* and *StTDR* transcripts in various organs and tissues of potato. To elucidate the functions of the *StBAM* and *StTDR* genes in potato development, we are using the CRISPR- Cas9 genome editing method. We have already obtained plants with edited alleles of the *StBAM2* and *StTDR2* genes. Work is ongoing to generate plants with edited alleles of other *StBAM* and *StTDR* genes.

This work is supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation under agreement No. 075-15-2022-322 dated 22.04.2022 for the provision of a grant in the form of a subsidy from the federal budget of the Russian Federation.

## ИНДУКЦИЯ И ВЫЯВЛЕНИЕ НЕРЕДУЦИРОВАННЫХ ЖЕНСКИХ И МУЖСКИХ ГАМЕТОФИТОВ У КУКУРУЗЫ И СОРГО С ПОМОЩЬЮ ГЕНОМНОГО РЕДАКТИРОВАНИЯ И РАЗНОПЛОИДНЫХ СКРЕЩИВАНИЙ ( $2n \times 4n$ )

Мавлютова Л. И.<sup>1</sup>, Эльконин Л. А.<sup>1</sup>, Колесова А. Ю.<sup>1</sup>, Беяева Е. В.<sup>1</sup>, Геращенко Г. А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ "Федеральный аграрный научный центр Юго-Востока", Саратов, Россия

<sup>2</sup> Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, Уфа, Россия

[lidia.bahteewa@yandex.ru](mailto:lidia.bahteewa@yandex.ru)

Экспериментальное создание линий и гибридов возделываемых растений, способных к апомиктичному размножению в течение многих лет привлекало внимание генетиков и селекционеров растений. Формирование нередуцированных зародышевых мешков (ЗМ) – важный компонент апомиктичного размножения у растений. Известно, что мутации в гене *ameiotic*, контролирующем расхождение гомологичных хромосом в I делении мейоза, ведут к образованию нередуцированных гамет. С целью получения мутантов, способных к формированию нередуцированных ЗМ, нами на основе бинарного вектора pBAtC, содержащего генетическую конструкцию CRISPR/Cas для сайта-направленного мутагенеза, были сконструированы вектора p09 и p10, у которых в сайт для гидРНК были встроены фрагменты нуклеотидной последовательности гена *ameiotic*. Данные вектора посредством агробактериальной трансформации были введены в геном линии кукурузы АТ ГПЛ, обладающей способностью к гаплоидному партеногенезу, а также в геном сорго (сорт Аванс). В результате было получено 16 трансгенных растений кукурузы (частота трансформации 4.4–11.5%) и 6 растений сорго (9.4%), несущих генетические конструкции CRISPR/Cas.

Для выявления мутантов, способных к формированию нередуцированных ЗМ использовался цитологический анализ пыльцы. Среди регенерантов кукурузы было выявлено одно растение с крупными фертильными пыльцевыми зёрнами (ПЗ). У сорго такие растения были выявлены в  $T_1$  в потомстве двух регенерантов (частота крупных ПЗ – 26–34%).

Для дальнейшего исследования полученных мутантов предполагается использовать гетероплоидные скрещивания ( $\text{♀ } 2n \times \text{♂ } 4n$ ), которые являются эффективным инструментом для выявления нередуцированных ЗМ. В таких скрещиваниях, в случае оплодотворения нередуцированного ЗМ пыльцой тетраплоида, в эндосперме восстанавливается баланс материнского и отцовского геномов (2m:1o), необходимый для развития полноценных выполненных зерновок.

В наших экспериментах при скрещивании некоторых линий и гибридов кукурузы с тетраплоидными линиями было обнаружено формирование выполненных зерновок, при этом частота зерновок с нередуцированными ЗМ, из которых развивались диплоидные, фенотипически матроклинные растения и тетраплоидные гибриды, составляла 17.6%.

Анализ плоидности эндосперма выполненных зерновок с помощью проточной цитометрии показал, что у большинства зерновок 1-й пик флуоресценции наблюдался при значениях, в два раза превышающих таковые в эндосперме диплоидов (3С), и соответствовал 6С, характерной для эндосперма тетраплоидов, что может свидетельствовать о развитии выполненных зерновок в скрещиваниях  $2n \times 4n$  у кукурузы на основе нередуцированных ЗМ. Генотипирование диплоидных растений, полученных из таких зерновок, по всем 10 хромосомам кукурузы с помощью полиморфных SSR- и Indel-маркеров, дифференцирующих отцовскую линию от материнских линий, показало, что у этих растений наблюдалась амплификация преимущественно аллелей материнских хромосом. Однако у каждого из изученных растений были отмечены случаи амплификации аллелей, по крайней мере, одной отцовской хромосомы, что, возможно, свидетельствует о формировании таких растений на основе оплодотворения нередуцированных ЗМ и последующей элиминации хромосом преимущественно отцовской линии. Таким образом, наши исследования показывают, что сочетание методов классической генетики и современной биотехнологии открывает новые перспективы в решении проблемы апомиксиса. Исследования проведены при поддержке Российского Научного фонда (грант №24-16-00063).

**Ключевые слова:** апомиксис, мей-мутанты, ген *ameiotic*, технология CRISPR/Cas, гетероплоидные скрещивания, сорго, кукуруза.

## INDUCTION AND IDENTIFICATION OF UNREDUCED FEMALE AND MALE GAMETOPHYTES IN MAIZE AND SORGHUM USING GENOME EDITING AND HETEROPLOIDY CROSSES ( $2n \times 4n$ )

Mavlyutova L. I.<sup>1</sup>, Elkonin L. A.<sup>1</sup>, Kolesova A. Y.<sup>1</sup>, Belyaeva E. V.<sup>1</sup>, Gerashchenkov G. A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Federal Center of Agriculture Research of the South-East Region, Saratov, Russia

<sup>2</sup> Institute of Biochemistry & Genetics UFRC RAS, Ufa  
[lidia.bahtewa@yandex.ru](mailto:lidia.bahtewa@yandex.ru)

Experimental creation of lines and hybrids of cultivated plants capable of apomictic reproduction has attracted the attention of geneticists and plant breeders for many years. Formation of unreduced embryo sacs (ESs) is an important component of apomictic reproduction in plants. It is known that mutations in the *ameiotic* gene, which controls the homologous chromosome segregation in the first meiotic division, lead to the formation of unreduced gametes. In order to obtain mutants capable of forming unreduced ESs, we constructed vectors p09 and p10. These vectors are based on the binary vector pBAtC containing the CRISPR/Cas genetic construct for site-directed mutagenesis, in which fragments of the nucleotide sequence of the *ameiotic* gene were inserted into the site for guide RNA. These vectors were introduced into the genome of the AT GPL maize line, which has the ability for haploid parthenogenesis, and into the genome of the grain sorghum cultivar Avans using *Agrobacterium*-mediated genetic transformation. As a result, 16 transgenic maize plants (transformation frequency 4.4–11.5%) and 6 sorghum plants (9.4%) carrying the CRISPR/Cas genetic constructs were obtained.

To identify mutants capable of forming unreduced ESs, cytological analysis of pollen was used. Among the maize regenerants, one plant with large fertile pollen grains (PGs) was identified. In sorghum, such plants were identified in the T<sub>1</sub> progeny of two regenerants (the frequency of large PGs is 26-34%).

For further study of these mutants, it is proposed to use heteroploid crosses ( $\text{♀ } 2n \times \text{♂ } 4n$ ), which are an effective tool for identifying unreduced ESs. In such crosses, in the case of fertilization of unreduced ES by pollen of tetraploids, the balance of maternal to paternal genomes (2m:1o) is restored in the endosperm, which is necessary for the development of normally developed plump kernels.

In our experiments, when crossing maize diploid lines and hybrids with tetraploid lines, the formation of plump kernels was detected, the frequency of kernels with unreduced ESs, from which diploid, phenotypically matroclinous plants and tetraploid hybrids developed, was 17.6%.

The analysis of the endosperm ploidy of the plump kernels using flow cytometry showed that in most kernels the 1st fluorescence peak was observed at values twice as high as those in the endosperm of diploids (3C) and corresponded to 6C peculiar to endosperm of tetraploids. These data may indicate the development of plump kernels in the  $2n \times 4n$  maize crosses on the basis of unreduced ESs. Genotyping of diploid plants obtained from such kernels for all 10 maize chromosomes using polymorphic SSR and Indel markers differentiating the paternal and maternal parents, showed that in these plants amplification of maternal chromosome alleles was observed predominantly. However, in each of the studied plants amplification of alleles of at least one paternal chromosome was observed. This result may indicate the formation of such plants as a result of the fertilization of unreduced ESs by diploid pollen grain and subsequent elimination of chromosomes mainly of the paternal line.

Thus, our research demonstrates that the combination of classical genetics and modern biotechnology methods opens up new prospects for solving the problem of apomixis.

The research was supported by the Russian Science Foundation (grant No. 24-16-00063).

**Keywords:** apomixis, *mei*-mutants, *ameiotic* gene, CRISPR/Cas technology, heteroploid crosses, sorghum, maize.



## АГРОБАКТЕРИАЛЬНАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ ВИНОГРАДА ПОСРЕДСТВОМ ОРГАНОГЕНЕЗА

Малетич Г.<sup>1\*</sup>, Пушин А.<sup>2</sup>, Долгов С.<sup>1,2</sup> и Хватков П.

<sup>1</sup>Федеральное Государственное Бюджетное Учреждение Науки «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад — Национальный научный центр РАН»

<sup>2</sup>Филиал Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А.

Овчинникова РАН

[maletich.galina@yandex.ru](mailto:maletich.galina@yandex.ru)

Изучена способность к органогенезу 22 генотипов винограда и разработан протокол прямого органогенеза для сорта Подарок Магарача и подвоя Кобер 5ББ. Протокол не требует замены питательных сред и регуляторов роста, продолжительность составляет 11 недель. Выращивание эксплантов происходит на модифицированной среде МС с добавлением 2,0 мг/л бензиладенина и индол-3-масляной кислоты (0,15 мг/л для подвоя Кобер 5ББ или 0,05 мг/л для сорта Подарок Магарача). Протокол прямого органогенеза состоит из трех временных периодов: (1) культивирование эксплантов в течение 2 недель в темных условиях для получения меристематической массы, (2) 4 недели культивирования в световых условиях для регенерации, (3) 5 недель культивирования в темных условиях для удлинения побегов. На основе данного протокола разработаны условия для агробактериальной трансформации сорта Подарок Магарача с эффективностью 2,0% трансгенных растений на 100 эксплантов. Получены две стабильно трансформированные линии с интеграцией в геном плазмидной конструкции pBin35SGFP, подтвержденной Саузерн- блоттингом.

Это исследование финансировалось грантом Российского научного фонда №. 23-76-10013.

*Ключевые слова:* Агробактериальная трансформация; виноградная лоза; *Vitis*; органогенез; меристематическая масса.

## AGROBACTERIUM-MEDIATED TRANSFORMATION OF GRAPES VIA ORGANOGENESIS

Maletich G.<sup>1</sup>, Pushin A.<sup>2</sup>, Dolgov S.<sup>1,2</sup> and Khvatkov P.<sup>1</sup><sup>1</sup>*Federal State Funded Institution of Science "The Labor Red Banner Order Nikita Botanical Gardens – National Scientific Center of the RAS"*<sup>2</sup>*Branch of Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry  
[maletich.galina@yandex.ru](mailto:maletich.galina@yandex.ru)*

Studied on the ability to organogenesis 22 genotypes of grapevine and developed a direct organogenesis protocol for the cultivar Podarok Magaracha and the rootstock Kober 5BB. Protocol does not require replacement of culture media and growth regulators, the duration is 11 weeks. Cultivation of explants occurs on modified MS medium with the addition of 2.0 mg l<sup>-1</sup> benzyladenine and indole-3-butyric acid (0.15 mg l<sup>-1</sup> for the rootstock Kober 5BB or 0.05 mg l<sup>-1</sup> for the cultivar Podarok Magaracha). The direct organogenesis protocol consists of three time periods: (1) culturing explants for 2 weeks in dark conditions for obtain meristematic bulk, (2) followed by 4 weeks of cultivation in light conditions for regeneration, (3) 5 weeks of cultivation in dark conditions for shoot elongation. Based on this protocol, conditions for the Agrobacterium-mediated transformation of the Podarok Magaracha cultivar were developed with an efficiency of 2.0% transgenic plants per 100 explants. Two stably transformed lines with integration into the genome of the pBin35SGFP plasmid construction, confirmed by Southern blotting, were obtained.

This research was funded by the Russian Science Foundation Grant no. 23-76-10013.

**Keywords:** *Agrobacterium*-mediated transformation; grapevine; *Vitis*; organogenesis; meristematic bulk.

## ГЕНОТИПИРОВАНИЕ С ПОМОЩЬЮ СЕКВЕНИРОВАНИЯ (GBS) КАК ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ РОССИЙСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ ХМЕЛЯ ОБЫКНОВЕННОГО (*HUMULUS LUPULUS*)

Мартынова Е. У.<sup>1</sup>, Замалутдинов А. В.<sup>1</sup>, Байк А. С.<sup>1</sup>, Черняева Е. А.<sup>2</sup>, Иванова И. Ю.<sup>3</sup>, Бен С.<sup>1</sup>, Гентцбиттель Л.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>АНОВО "Сколковский институт науки и технологий"

<sup>2</sup>Российский Государственный аграрный университет

<sup>3</sup>Чувашский НИИСХ

[e.martynova@skoltech.ru](mailto:e.martynova@skoltech.ru)

Генотипирование с помощью секвенирования (GBS) — это метод, разработанный *Elshire et al.* (2011), который использует возможности NGS для выявления однонуклеотидных полиморфизмов в больших популяциях растений и животных. В основе концепции метода лежит фрагментация генома специфическими рестрикционными эндонуклеазами и отбор фрагментов, размеры которых сопоставимы с короткими чтениями платформы Illumina. Данный подход позволяет секвенировать до 3 % генома в виде фрагментов, равномерно покрывающих геном. После обработки результатов секвенирования и выравнивания коротких чтений можно получить несколько тысяч SNPs для дальнейшего изучения разнообразия и картирования признаков/проведения GWAS. Снижение сложности таким образом позволяет генотипировать несколько сотен образцов одновременно. Чтобы максимально использовать преимущества GBS в плане количества и качества полученных SNP, необходимо использование эффективного протокола. Эффективность протокола во многом зависит от выбора правильной рестриктазы.

Хмель (*Humulus lupulus* L.) — многолетнее двудомное растение семейства Cannabaceae. Несмотря на широкое использование и большую важность, этот вид растений крайне мало исследован на генетическом уровне, и большая часть его разнообразия, доступного селекционерам, мало изучена.

Нами был разработан эффективный GBS протокол для хмеля. На первом этапе был проведен *in silico* поиск наиболее эффективных рестриктаз. Далее ферменты рестрикции были протестированы *in vitro*, и были выбраны два наиболее эффективных варианта, а именно *ApeKI* и *HindIII*. Два протокола GBS, основанные на этих ферментах, были использованы для создания геномных библиотек хмеля. Протокол на основе *HindIII* позволил получить библиотеку лучшего качества. Результаты секвенирования также показали большее количество прочтений и SNPs для библиотеки на основе *HindIII*, хотя покрытие генома было выше для *ApeKI*. Качество SNP было сопоставимо для обеих библиотек. С помощью разработанных нами пайплайнов было рассчитано необходимое количество прочтений на основе протокола *HindIII* для получения достаточного количества SNP для дальнейших исследований.

На втором этапе мы использовали метод *HindIII* для изучения генетического разнообразия около 350 сортов хмеля из коллекции Чувашского сельскохозяйственного института (г. Чебоксары), включая мировые сорта хмеля, дикорастущие растения хмеля из России и мужские растения. Количество полученных данных по каждому сорту было сопоставимо с прогнозируемым.

Работа поддержана Российским Научным Фондом (грант 24-26-00165, <https://rscf.ru/project/24-26-00165/>).

**Ключевые слова:** Хмель обыкновенный, *Humulus lupulus*, GBS, эндонуклеазы рестрикции, генетическое разнообразие

GENOTYPING-BY-SEQUENCING (GBS) AS AN INSTRUMENT TO STUDY THE GENETIC DIVERSITY OF THE RUSSIAN COLLECTION OF COMMON HOPS (*HUMULUS LUPULUS*)

Martynova E. U. <sup>1</sup>, Zamalutdinov A. <sup>1</sup>, Baik A. <sup>1</sup>, Chernyaeva E. <sup>2</sup>, Ivanova I. <sup>3</sup>, Ben C. <sup>1</sup>,  
Gentzbittel L. <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Skolkovo Institute of Science and Technology

<sup>2</sup> Russian State Agrarian University

<sup>3</sup> Chuvash Agricultural Research Institute

[e.martynova@skoltech.ru](mailto:e.martynova@skoltech.ru)

GBS, or genotyping-by-sequencing, is a technique first introduced for maize in 2011 by *Elshire et al.* which utilizes the power of new generation sequencing to reveal single nucleotide polymorphisms in large plant and animal populations. The method is based on genome complexity reduction by means of whole genome digest by specific restriction nuclease/nucleases and selection of fragments with the sizes comparable with short Illumina reads. This allows extracting up to 3% of the genome in fragments which would evenly cover the genome. After processing sequencing results and aligning the short reads, several thousands of SNPs can be obtained for further diversity and trait mapping/GWAS studies. Complexity reduction allows genotyping several hundreds of samples simultaneously. Introducing GBS in plants pushed forward the understanding of the genetic control of many important agricultural traits and enabled the practical use of genomic selection in plants.

To make the most of GBS for a new species in terms of the number and quality of SNPs obtained, an efficient protocol should be applied. The efficiency of the protocol depends, to a large extent, on the choice of the right restriction enzyme.

Hops (*Humulus lupulus* L.) is a perennial dioecious plant in the *Cannabaceae* family. Hops are an important agricultural crop with the cones produced by female plants being an indispensable material for the beer brewing industry. Despite its broad use, this plant species is highly understudied at the genetic level, with much of its diversity available to breeders poorly understood.

We have developed an efficient protocol for GBS in hop. At the first stage, an *in silico* search for best-performing restriction enzymes was carried out, which allowed choosing a number of restriction enzymes for empirical testing. Restriction enzymes were further tested through whole genome restriction, and two best-performing variants were selected, namely, classical *ApeKI* and *HindIII*. Two GBS protocols based on these enzymes were used to produce hop genome libraries for NGS. The *HindIII*-based protocol made it possible to obtain a better quality library based on first electrophoretic assessment and QC. NGS results also showed more generated reads, sequencing tags, and SNPs for the *HindIII* library, although the sequencing coverage was higher for *ApeKI*. SNP quality was comparable for both libraries.

*In silico* predictions using the own pipelines allowed calculating the required number of reads based on the *HindIII* protocol required to get the sufficient number of reads for further diversity studies.

At the second stage, we used the *HindIII* method to study the genetic diversity in about 350 hop accessions from the collection of the Chuvash Agricultural Institute (Cheboksary, Chuvash republic), including the worldwide hop cultivars, wild plants from Russia, and male plants. The amount of data obtained for each accession was comparable with the predicted.

The work was supported by the Russian Scientific Foundation (grant no. 24-26-00165, <https://rscf.ru/project/24-26-00165/>).

**Keywords:** Common hop, *Humulus lupulus*, GBS, restriction enzyme, diversity

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ SCOT МАРКЕРОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *ACTINIDIA* В КОЛЛЕКЦИИ ФИЦ СЦ РАН

Мацькив А. О. , Тутберидзе Ц. В. , Кондратенко Е. И. , Симонян Т. А. , Шуркина Е. С. ,  
Цатурян Г. А. , Конинская Н. Г. , Шхалахова Р. М.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр «Субтропический научный центр Российской академии наук»  
[matskiv\\_a@mail.ru](mailto:matskiv_a@mail.ru)

Актинидия – род деревянистых лиан семейства Актинидиевые (*Actinidiaceae*), это ценная плодово-ягодная культура. Адаптивные сорта позволяют производить высокий урожай, способствуя продовольственной безопасности в условиях изменяющегося климата. В настоящее время для анализа генетического разнообразия применяют различные типы молекулярных маркеров (AFLP, ISSR, RAPD, SRAP). Однако, одной из эффективных технологий является маркерная система SCoT (start codon targeted polymorphism). Для данных маркеров характерны высокая воспроизводимость результатов, нацеленность на амплификацию функциональных участков генома и относительно небольшие затраты на проведение анализа.

Объектом исследования являлись 19 образцов актинидии коллекции ФИЦ СЦ РАН (*A. kolomikta* - 2; *A. arguta* - 8; *A. deliciosa* - 9). Выделение ДНК из молодых листьев растений производили согласно протоколу СТАВ (Doyle, 1990). Проверку качества полученной ДНК выполняли с помощью электрофореза в 1% агарозном геле, концентрацию ДНК определяли спектрофотометрическим методом. Финальная концентрация ДНК - пробы в смеси ПЦР составляла 150 нг/мкл. Для исследования применяли набор из 35 SCoT маркеров. Реакционная смесь для ПЦР состояла из 10 мкл 2х реакционного буфера HS – TaqPCR, содержащего Hot Start Taq – полимеразу; 0,4 мкл праймера; 3,3 мкл 6х буфера для нанесения; 1 мкл ДНК (150 нг/мкл) и обработанной DEPC воды в общем объеме ПЦР 20 мкл. С применением термоциклера MiniAmp (Thermo Fisher Scientific, США) провели амплификацию фрагментов ДНК при следующих условиях: первичная денатурация 5 мин при 95 °С, отжиг 35 циклов денатурация при 95 °С в течение 1 мин, отжиг при 50 °С в течение 1 мин, элонгация при 72 °С в течение 2 мин и финальная элонгация при 72 °С в течение 5 мин. Полученные ПЦР-продукты разделяли в 2% агарозном геле в течение 2 ч при напряжении 90 В в 1х ТАЕ буфере. Обработку данных проводили в виде бинарной матрицы 1/0. Параметры генетического разнообразия были рассчитаны с использованием программы IMEC (Marker Efficiency Calculator. URL: <https://irscope.shinyapps.io/iMEC/>) и программного обеспечения GeneAlex ver. 6.5 (Peakall, Smouse, 2006; Peakall, Smouse, 2012).

По результатам анализа коллекции актинидии ФИЦ СЦ РАН из 35 испытанных SCoT-маркеров выбрали 17 информативных маркеров. С указанными маркерами удалось получить 199 ПЦР-фрагментов, из них 182 фрагмента (92%) оказались полиморфными. Наибольшее число ампликонов (15) получено с использованием праймера SCoT-35, наименьшее (8) – с использованием праймера SCoT-28. Десять SCoT - маркеров (SCoT 12, SCoT 13, SCoT 14, SCoT 15, SCoT 20, SCoT 26, SCoT 28, SCoT 31, SCoT 33, SCoT 34) показали максимальный уровень ДНК-полиморфизма (100 %).

Семь других маркеров (SCoT 11, SCoT 24, SCoT 29, SCoT 30, SCoT 32, SCoT 35, SCoT 36) также показали высокий уровень полиморфизма (73,33–90,91 %). Индекс гетерозиготности SCoT маркеров составил 0,46, PIC - 0,38, различительная способность (D) - 0,63, дискриминационная способность (R) - 5,90. Эти маркеры можно использовать в селекции и семеноводстве разных сортов актинидии. В частности, для ДНК-идентификации сортов и генотипов, разработки генетических паспортов, контроля стабильности сорта в процессе использования. В дальнейшем планируется более глубокий анализ этой коллекции.

Работа подготовлена в рамках реализации ГЗ ФИЦ СЦ РАН FGRW-2024–0005, регистрационный номер 124022000092-4.

## EFFICIENCY OF SCOT MARKERS FOR ASSESSING THE GENETIC DIVERSITY OF ACTINIDIA REPRESENTATIVES IN THE COLLECTION OF THE FRC SRC RAS

Matskiv A. O., Tutberidse T. V., Kondratenko E. I., Simonyan T. A., Shurkina E. S., Tsaturyan G. A., Koninskaya N. G., Shkhalakhova R. M.

*Federal Research Centre the Subtropical Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences*  
[matskiv\\_a@mail.ru](mailto:matskiv_a@mail.ru)

Actinidia is a genus of woody vines of the *Actinidiaceae* family, a valuable fruit and berry crop. High adaptability allows producing high-quality fruits, contributing to food security in a changing climate. Currently, various types of molecular markers (AFLP, ISSR, RAPD, SRAP) are used to analyze genetic diversity. However, one of the effective technologies is the SCoT marker system (start codon targeted polymorphism). These markers are characterized by high reproducibility of results, focus on the amplification of functional regions of the genome and relatively low costs of analysis. The object of the study were 19 actinidia samples from the collection of the FRC SRC RAS (*A. kolomikta* - 2; *A. arguta* - 8; *A. deliciosa* - 9). DNA was isolated from young plant leaves according to the CTAB protocol (Doyle, 1990). The quality of the obtained DNA was checked by electrophoresis in 1% agarose gel, and the DNA concentration was determined spectrophotometrically. The final concentration of the DNA sample in the PCR mixture was 150 ng/μl. A set of 35 SCoT markers was used for the study. The PCR reaction mixture consisted of 10 μl of 2x HS-TaqPCR reaction buffer containing Hot Start Taq polymerase; 0.4 μl of primer; 3.3 μl of 6x loading buffer; 1 μl of DNA (150 ng/μl) and DEPC-treated water in a total PCR volume of 20 μl. Using a MiniAmp thermal cycler (Thermo Fisher Scientific, USA), DNA fragments were amplified under the following conditions: primary denaturation for 5 min at 95 °C, annealing for 35 cycles of denaturation at 95 °C for 1 min, annealing at 50 °C for 1 min, elongation at 72 °C for 2 min and final elongation at 72 °C for 5 min. The resulting PCR products were separated in a 2% agarose gel for 2 h at a voltage of 90 V in 1x TAE buffer. Data were processed as a binary 1/0 matrix. Genetic diversity parameters were calculated using the IMEC program (Marker Efficiency Calculator. URL: <https://irscope.shin-yapps.io/IMEC/>) and GeneAlex ver. 6.5 (Peakall, Smouse, 2006; Peakall, Smouse, 2012).

Based on the results of the analysis of the actinidia collection of the Federal Research Center SSC RAS, 17 informative markers were selected from 35 tested SCoT markers. Using the indicated markers, it was possible to obtain 199 PCR fragments, of which 182 fragments (92%) turned out to be polymorphic. The largest number of amplicons (15) was obtained using primer SCoT-35, the smallest (8) – using primer SCoT-28. Ten SCoT markers (SCoT 12, SCoT 13, SCoT 14, SCoT 15, SCoT 20, SCoT 26, SCoT 28, SCoT 31, SCoT 33, SCoT 34) showed the maximum level of DNA polymorphism (100%). Seven other markers (SCoT 11, SCoT 24, SCoT 29, SCoT 30, SCoT 32, SCoT 35, SCoT 36) also showed a high level of polymorphism (73.33 - 90.91%). The heterozygosity index of SCoT markers was 0.46, PIC - 0.38, discriminative ability (D) - 0.63, discriminatory ability (R) - 5.90. These markers can be used in the selection and seed production of different Actinidia varieties. In particular, for DNA identification of varieties and genotypes, development of genetic passports, control of variety stability during use. A more in-depth analysis of this collection is planned in the future.

The work was prepared within the framework of the implementation of the State Order of the Federal Research Center SSC RAS FGRW-2024-0005, registration number 124022000092-4.

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ НАИБОЛЕЕ РАСПРОСТРАНЕННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ КРЫМСКИХ МОЖЖЕВЕЛЬНИКОВ ВИДОВ *J. DELTOIDES* И *J. EXCELSA*

Мегер Я. В. , Сыровец А. А. , Лантушенко А. О. , Шевчук О. М.

ФГАУО ВО «Севастопольский государственный университет»  
[meger\\_yakov@mail.ru](mailto:meger_yakov@mail.ru)

*Juniperus L.* — один из самых разнообразных родов хвойных. Род состоит примерно из 75 видов в 3 монофилетических секциях: *Caryocedrus*, *Juniperus* и *Sabina*. На территории Крыма произрастает 5 видов можжевельников: *J. communis L.*, *J. deltoides R.P. Adams*, *J. excelsa M.-Bieb.*, *J. foetidissima Willd.*, *J. sabina L.*, играющие важную роль в формировании растительного покрова Горного Крыма. Их можно отнести к средообразующим растениям, наполняющим целебный воздух Крымского полуострова фитонцидами и оказывающим на организм человека оздоравливающее воздействие.

Наиболее многочисленными в Крыму являются 2 вида можжевельников: *J. deltoides* и *J. excelsa*. *J. excelsa* среди можжевельников Крыма является основной лесообразующей породой. В отличие от *J. excelsa*, особи вида *J. deltoides* не выступают в качестве лесообразующей породы, а чаще всего встречаются в виде подлеска в сообществах *J. excelsa*, *Q. pubescens*, *P. mutica*, *Pinus brutia* var. *pityusa* (Steven) Silba.

Для генетического анализа были отобраны 16 образцов *J. deltoides* и 17 образцов *J. excelsa* с разных локалитетов Крымского полуострова.

Гомогенизация хвои осуществлялась с использованием ступки и пестика в жидком азоте, последующее выделение ДНК проводилось при помощи набора DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Germany). Амплификация маркерных генов осуществлялась с использованием ранее описанных универсальных праймеров и протоколов, с помощью набора реактивов ScreenMix (Евроген, Россия). Секвенирование полученных фрагментов осуществлялось с помощью набора реактивов ГенСек (Синтол, Россия), визуализация продуктов секвенирования проводилась с помощью генетического анализатора НАНОФОР-05 (Синтол, Россия) в ЦКП «Молекулярная структура вещества». Полученные последовательности сравнивались с имеющимися в базе данных Национального Центра биотехнологической информации (NCBI).

Для популяции *J. deltoides* анализировались пять нуклеотидных последовательностей: ядерный ITS и четыре хлоропластных *petN-psbM*, *trnD-trnT*, *trnL-trnF*, *trnS-trnG* генетических фрагмента. Из этих участков самым вариабельным по числу мутаций оказался ITS, а наименьшая вариабельность характерна для *trnS-trnG* фрагмента.

Для образцов *J. excelsa* также проводилось секвенирование пяти нуклеотидных последовательностей, но для некоторых образцов электрофореграммы ITS участков оказались непригодными для анализа и в дальнейшем исследование были включены только 4 хлоропластные последовательности.

Для сравнения с крымскими образцами были взяты последовательности из работы [2]. Построение филогенетического дерева выполнялось с использованием байесовского метода, реализованного в MrBayes версии 3.2.6., а также программной оболочки BEAST v1.10.4. Дерево строилось на основе объединённых последовательностей, содержащих 4 маркерных участка. Построены хронограммы, отражающие периоды дивергенции различных видов. Проведен анализ генетического разнообразия видов *J. excelsa* и *J. deltoides*.

Количество вариабельных сайтов, среднее число нуклеотидных различий на популяцию и общее количество нуклеотидных замен для популяции *J. excelsa* существенно выше, чем для *J. deltoides*.

Анализ хронограммы позволяет предположить, что дивергенция крымских особей *J. deltoides* произошла несколько раньше, чем можжевельников данного вида, произрастающих в Турции. Для *J. excelsa* время дивергенции крымской и турецкой популяций примерно одинаковы.

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE MOST WIDESPREAD POPULATIONS OF CRIMEAN JUNIPER SPECIES *J. DELTOIDES* AND *J. EXCELSA*

Meger Y. V. , Syrovets A. A. , Lantushenko A. O. , Shevchuk O. M.

Sevastopol State University  
[meger\\_yakov@mail.ru](mailto:meger_yakov@mail.ru)

*Juniperus* L. is one of the most diverse coniferous genera. The genus consists of approximately 75 species in 3 monophyletic sections: *Caryocedrus*, *Juniperus* and *Sabina*. There are 5 species of junipers growing on the territory of Crimea: *J. sommipis* L., *J. deltoides* R.P. Adams, *J. excelsa* M.-Bieb., *J. foetidissima* Willd., *J. sabina* L., which play an important role in the formation of the vegetation cover of the Mountainous Crimea. They can be attributed to the environment-forming plants that fill the healing air of the Crimean Peninsula with phytoncides and have a healing effect on the human body. The most numerous in Crimea are 2 species of junipers: *J. deltoides* and *J. excelsa*. *J. excelsa* is the main forest-forming species among the junipers of Crimea. Unlike *J. excelsa*, individuals of the *J. deltoides* species do not act as a forest-forming breed, but are most often found as an understory in the communities of *J. excelsa*, *Q. pubescens*, *P. mutica*, *Pinus brutia* var. *pityusa* (Steven) Silba [1]. Sixteen *J. deltoides* and seventeen *J. excelsa* samples from different localities of the Crimean Peninsula were selected for genetic analysis. The homogenization of needles was carried out using a mortar and pestle in liquid nitrogen, subsequent DNA isolation was carried out using the DNeasy Plant Mini Kit (Quagen, Germany). The amplification of marker genes was carried out using the previously described universal primers and protocols, using a set of ScreenMix reagents (Eurogen, Russia). Sequencing of the obtained fragments was carried out using a set of GenSek reagents (Syntol, Russia), visualization of sequencing products was carried out using a genetic analyzer NANOPHOR-05 (Syntol, Russia) in the CCP "Molecular Structure of matter". The obtained sequences were compared with those available in the database of the National Center for Biotechnology Information (NCBI). Five nucleotide sequences were analyzed for the *J. deltoides* population: nuclear *ITS* and four chloroplast *petN-psbM*, *trnD-trnT*, *trnL-trnF*, *trnS-trnG* genetic fragments. Of these sites, *ITS* turned out to be the most variable in the number of mutations, and the least variability is characteristic of the *trnS-trnG* fragment. Five nucleotide sequences were also sequenced for *J. excelsa* samples, but for some samples the electrophoregrams of *ITS* sites turned out to be unsuitable for analysis and only 4 chloroplast sequences were included in the further study. Sequences from the work were taken for comparison with the Crimean samples [2]. The phylogenetic tree was constructed using the Bayesian method implemented in MrBayes version 3.2.6, as well as the BEAST v1.10 software shell. The tree was built on the basis of combined sequences containing 4 marker sections. Chronograms reflecting periods of divergence of various types are constructed. The analysis of the genetic diversity of *J. excelsa* and *J. deltoides* species was carried out. The number of variable sites, the average number of nucleotide differences per population, and the total number of nucleotide substitutions for the *J. excelsa* population are significantly higher than for *J. deltoides*. The analysis of the chronogram suggests that the divergence of the Crimean individuals of *J. deltoides* occurred somewhat earlier than the junipers of this species growing in Turkey. For *J. excelsa*, the divergence times of the Crimean and Turkish populations are approximately the same.



## ПОИСК ЛОКУСОВ ХОЗЯЙСТВЕННО ЦЕННЫХ ПРИЗНАКОВ СОИ С ПОМОЩЬЮ ПОЛНОГЕНОМНОГО АНАЛИЗА АССОЦИАЦИЙ В УСЛОВИЯХ ВЛАЖНЫХ СУБТРОПИКОВ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Меньков М. Т.<sup>1</sup>, Лепилова Е. А.<sup>1</sup>, Розанова И. В.<sup>2</sup>, Сеферова И. В.<sup>3</sup>, Бойко А. П.<sup>3</sup>,  
Димитриева А. А.<sup>1</sup>, Хлесткина Е. К.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Научно-технологический университет "Сириус"

<sup>2</sup> НБС-ННЦ, г. Ялта

<sup>3</sup> ВИР им. Н.И. Вавилова  
[kuu77753@gmail.com](mailto:kuu77753@gmail.com)

Наиболее перспективным методом выявления геномных локусов, ассоциированных с селекционно значимыми признаками, является полногеномный анализ ассоциаций (GWAS). Анализ генов-кандидатов в выявленных локусах позволит в дальнейшем маркировать селекционно ценные гены и вести ускоренный отбор селекционного материала ускоренным способом при помощи ДНК-диагностики. Современные методы исследования последовательности позволяют эффективно применять методы таргетного секвенирования геномов различных сортов для генотипирования (GBS) и последующего анализа ассоциаций «генотип-фенотип».

Целью данной работы было выявить ассоциацию между генотипом и фенотипом ценных хозяйственных признаков и вести ускоренный отбор селекционного материала ускоренным способом при помощи ДНК-диагностики.

Мы провели исследование на 202 образцах мировой коллекции сои ВИР, контрастно отличающиеся по фенотипу и ранее не участвующие в подобном исследовании. Была осуществлена комплексная фенотипическая оценка 202 образцов мировой коллекции сои ВИР в условиях влажного субтропического климата в 2023, 2024 году. Также мы провели GBS генотипирование 190 образцов сои для дальнейшего GWAS исследования, эти образцы ранее не генотипировали.

Использование метода GWAS на ранее не изученных сортах с применением метода GBS генотипирования позволяет нам получить новую информацию о SNP генов ценных хозяйственных признаков. Полученные данные помогут в разработке ДНК-маркеров для ускоренной селекции.

Работа выполнена в рамках аспирантской работы НТУ «Сириус» при поддержке № 075-15-2022-323 от 21.04.2022 "Создание и развитие научного центра мирового уровня "Агротехнологии будущего".

*Ключевые слова:* генотипирование, GWAS, секвенирование, GBS, соя, фенотипирование, ускоренная селекция

## WHOLE GENOME ASSOCIATION ANALYSIS IN THE HUMID SUBTROPICS OF THE RUSSIAN FEDERATION

Menkov M. T. <sup>1</sup>, Lepilova E. A. <sup>1</sup>, Rozanova I. V. <sup>2</sup>, Seferova I. V. <sup>3</sup>, Boyko A. P. <sup>3</sup>,  
Dimitrieva A. A. <sup>1</sup>, Khlestkina E. K. <sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Sirius University of Science and Technology, Sirius Federal Territory, Krasnodar region, Russia*

<sup>2</sup> *The Nikitsky Botanical Gardens*

<sup>3</sup> *All-Russian Institute of Plant Genetic Resources*

[kuu77753@gmail.com](mailto:kuu77753@gmail.com)

The most promising method for identifying genomic loci associated with breeding-significant traits is genome-wide association analysis (GWAS). Analysis of candidate genes in the identified loci will further allow marking breeding-valuable genes and conducting accelerated selection of breeding material in an accelerated manner using DNA diagnostics. Modern methods of sequence research allow the effective use of targeted sequencing of genomes of various varieties for genotyping (GBS) and subsequent analysis of genotype-phenotype associations.

The aim of this work was to identify the association between the genotype and phenotype of valuable economic traits and conduct accelerated selection of breeding material in an accelerated manner using DNA diagnostics.

We conducted a study on 202 samples of the world soybean collection of VIR, contrastingly different in phenotype and not previously involved in such a study. A comprehensive phenotypic assessment of 202 samples of the VIR world soybean collection was carried out in a humid subtropical climate in 2023 and 2024. We also conducted GBS genotyping of 190 soybean samples for further GWAS research; these samples had not been genotyped before.

Using the GWAS method on previously unstudied varieties using the GBS genotyping method allows us to obtain new information about the SNP genes of valuable economic traits. The data obtained will help in the development of DNA markers for accelerated selection.

The work was carried out as part of the postgraduate work of NTU "Sirius" with the support of No. 075-15-2022-323 dated 04/21/2022 "Creation and development of a world-class scientific center "Agrotechnologies of the Future".

**Keywords:** genotyping, GWAS, sequencing, GBS, soybean, phenotyping, accelerated selection

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИДОВОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ ЕЖЕВИКИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БАРКОДИРОВАНИЯ НА ТЕРРИТОРИИ ЧЕРНОМОРСКОГО ПОБЕРЕЖЬЯ

Меньков М. Т. , Журавлев И. Ю. , Добаркина Н. А. , Евлаш А. Я. , Маркова Е. Н. , Шипилина Л. Ю. , Розанов А. С.

Научно-технологический университет "Сириус"  
[kuu77753@gmail.com](mailto:kuu77753@gmail.com)

Современная биология сталкивается с проблемой точной идентификации видов растений, особенно в сложных родах, как *Rubus*. На территории России род *Rubus* включает в себя семь подродов: *subgen. Idaeobatus*, *subgen. Rubus*, *subgen. Cylactis*, *subgen. Chamaerubus*, *subgen. Hummulibatus*, *subgen. Petrobatus*, *subgen. × Idaeorubus*. В нашем исследовании интерес вызывает подрод *Rubus*, так как морфологические различия видов часто недостаточны для их разграничения из-за их частой гибридизации.

Территория между реками Мзымта и Псоу имеет различные геоморфологические условия, и, как следствие, большое разнообразие экологических ниш. Ежевики, которые здесь обитают, обладают широким набором фенотипических характеристик, что затрудняет их видовую идентификацию. С целью определения таксонов гибридного происхождения необходимо провести не только морфологические исследования, но и молекулярные, что позволит точно идентифицировать ежевику в пределах ФТ Сириус.

Наиболее точным и достоверным методом определения видовой принадлежности является использование ДНК-маркеров. Наиболее широкое применение получили следующие маркеры: последовательность ядерного спейсера (*ITS1*, *ITS2*) и последовательности хлоропластных генов (*matK*, *rbcL*).

Многочисленные исследования показывают, что *ITS*-маркеры (*Internal Transcribed Spacer*) являются одними из наиболее эффективных для идентификации видов растений. Работы Сархановой и коллег (2017) продемонстрировали высокую вариабельность *ITS*-регионов для разграничения близкородственных видов. Исследования Груанда (2017) по использованию *AmpliSeq* для анализа ампликонов показали, что этот метод обеспечивает высокую точность выявления видов.

Цель исследования — выявить видовое разнообразие и гибриды ежевики на территории Черноморского побережья в районе, ограниченном реками Псоу и Мзымта.

Образцы растений рода *Rubus*, собранные в течение полевого сезона 2024 года, послужили источником данных. ДНК экстрагировалась из свежих листьев и гербарных образцов, с последующей амплификацией *ITS*-региона и хлоропластных регионов с помощью ПЦР. Полученные ампликоны будут секвенированы методом *AmpliSeq*. Использование ДНК-баркодирования с применением *ITS*-маркеров, хлоропластных маркеров и метода *AmpliSeq* позволит уточнить видовой состав рода *Rubus* на территории Черноморского побережья.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-16-20042.

**Ключевые слова:** ежевика, баркодирование, секвенирование, молекулярный маркер, определение видов.

## DETERMINATION OF THE SPECIES OF BLACKBERRY USING BARCODE ON THE TERRITORY OF THE BLACK SEA COAST

Menkov M. T. , Zhuravlev I. Y. , Dobarkina N. A. , Evlash A. Y. , Markova E. N. , Shipilina L. Y. , Rozanov A. S.

*Sirius University of Science and Technology*  
[kuu77753@gmail.com](mailto:kuu77753@gmail.com)

Modern biology faces the problem of precise identification of plant species, especially in complex genera such as *Rubus*. In Russia, the genus *Rubus* includes seven subgenera: *subgen. Idaeobatus*, *subgen. Rubus*, *subgen. Cylactis*, *subgen. Chamaerubus*, *subgen. Hummulibatus*, *subgen. Petrobatus*, *subgen. × Idaeorubus*. In our study, the subgenus *Rubus* is of interest, since the morphological differences of species are often insufficient for their differentiation due to their frequent hybridization.

The territory between the Mzymta and Psou rivers has various geomorphological conditions, and as a consequence, a wide variety of ecological niches. Blackberries that live here have a wide range of phenotypic characteristics, which complicates their species identification. In order to determine taxa of hybrid origin, it is necessary to conduct not only morphological studies, but also molecular ones, which will allow for precise identification of blackberries within the Sirius FT. The most accurate and reliable method for determining species identity is the use of DNA markers. The following markers are most widely used: nuclear spacer sequence (*ITS1*, *ITS2*) and chloroplast gene sequences (*matK*, *rbcL*).

Numerous studies show that *ITS* markers (*Internal Transcribed Spacer*) are among the most effective for identifying plant species. The work of Sarkhanova and colleagues (2017) demonstrated high variability of *ITS* regions for distinguishing closely related species. Research by Gruand (2017) on the use of *AmpliSeq* for amplicon analysis showed that this method provides high accuracy in identifying species.

The purpose of the study was to identify the species diversity and hybrids of blackberries on the Black Sea coast in the area bounded by the Psou and Mzymta rivers.

Samples of *Rubus* plants collected during the 2024 field season served as a source of data. DNA was extracted from fresh leaves and herbarium samples, followed by amplification of the *ITS* region and chloroplast regions using PCR. The resulting amplicons will be sequenced using the *AmpliSeq* method.

The use of DNA barcoding using *ITS* markers, chloroplast markers and the *AmpliSeq* method will help clarify the species composition of the *Rubus* genus on the Black Sea coast.

The study was supported by the grant of the Russian Science Foundation No. 24-16-20042.

**Keywords:** blackberry, barcoding, sequencing, molecular marker, species determination.

## МОРОЗОСТОЙКОСТЬ СОРТОВ И ФОРМ НЕКТАРИНА СЕЛЕКЦИИ НИКИТСКОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА

Месяц Н. В. , Смыков А. В.

ФГБУН «Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН»  
[vasova\\_natali.zxcv@mail.ru](mailto:vasova_natali.zxcv@mail.ru)

Нектарин отличается повышенной теплолюбивостью и низкой зимостойкостью. По литературным данным, при исследовании потенциальной морозостойкости нектарина выявлено, что устойчивость генеративных почек варьирует в зависимости от внешних и внутренних факторов. Осенью, до наступления первого похолодания, генеративные почки, в которых завершились процессы органогенеза цветка, были способны выдерживать морозы от  $-10$  до  $-12^{\circ}\text{C}$ . В период дифференциации спорогенной ткани пыльника в почках (октябрь-ноябрь), под воздействием закалывающих температур, устойчивость почек возрастала до  $-14\dots-15^{\circ}\text{C}$ . Ее максимальное значение зафиксировано в конце периода покоя – декабрь-январь. В этот период почки растений выдерживали морозы от  $-19$  до  $-23^{\circ}\text{C}$  в зависимости от зоны произрастания.

Степень зимо- и морозовыносливости цветковых почек зависит от продолжительности фаз их развития в зимне-весенний период. В результате многолетних исследований Шолохова А.М., Яблонского Е.А., Елманова С.И., установлено, что максимальную морозостойкость почки проявляют в период формирования в пыльниках спорогенной ткани, который совпадает с периодом глубокого или биологического покоя. В период формирования одно-двухклеточной пыльцы генеративные почки наименее устойчивы к низким температурам.

Для выделения источников повышенной морозостойкости цветковых почек в январе-феврале 2022-2024 гг. было проведено многократное промораживание однолетних побегов 12 сортов и форм нектарина селекции НБС-ННЦ в климатической тест-камере "ТТС 256 MemmertС ПО" при температурах от  $-13^{\circ}\text{C}$  до  $-20^{\circ}\text{C}$  в различные фазы морфогенеза цветковых почек. Для опыта использовали побеги, срезанные с разных сторон средней части кроны длиной 20-30 см. Общее количество исследуемых почек в каждом варианте составляло 100 шт. (5-10 побегов).

В результате шести промораживаний сортов и форм нектарина, с повышенной морозостойкостью выделено пять образцов (36,6-50,6 % повреждений): Легенда, Нектакульдж 142-91, Неугасимый, Рубиновый 4, Хони 945-89. С сильным повреждением почек (52,2-71,3 %) отмечено пять сортов и форм: Крымчанин, Аметист, Никитский 85, Рубиновый 7, Эльбертазия 496-85 и с очень сильным (83,0-84,2 %) – два образца: Крымцухт, Серго. В целом по сортам, средняя гибель почек составила 59,3 %, а коэффициент вариации признака – 27,3%. При проведении промораживания в январе у изученных генотипов нектарина наблюдали фазы развития морфогенеза – спорогенная ткань, микроспороциты, тетрады микроспор; в феврале – тетрады микроспор, микроспоры и формирование одноклеточной пыльцы. Пять образцов нектарина, отобранных со слабыми повреждениями генеративных почек, представляют интерес, как источники морозостойкости для использования в гибридизации и для дальнейшей селекции.

*Ключевые слова:* нектарин, сорта, формы, искусственное промораживание, морозостойкость цветковых почек

## FROST RESISTANCE OF NECTARINE VARIETIES AND FORMS SELECTED BY THE NIKITSKY BOTANICAL GARDEN

Mesyats N. V. , Smykov A. V.

*Federal State Budgetary Institution of Science «Order of the Red Banner of Labor Nikitsky Botanical Garden - National Scientific Center of the Russian Academy of Sciences»  
[vlasova\\_natali.zxcv@mail.ru](mailto:vlasova_natali.zxcv@mail.ru)*

Nectarine is characterized by increased thermophilicity and low winter hardiness. According to literary data, when studying the potential frost resistance of nectarine, it was revealed that the resistance of generative buds varies depending on external and internal factors. In the fall, before the first cold snap, generative buds, in which the processes of flower organogenesis were completed, were able to withstand frosts from -10 to -12 ° C. During the period of differentiation of sporogenous tissue of the anther in the buds (October-November), under the influence of hardening temperatures, the resistance of the buds increased to -14 ... -15 ° C. Its maximum value was recorded at the end of the dormant period - December-January. During this period, the buds of plants withstood frosts from -19 to -23 ° C depending on the growing zone.

The degree of winter and frost resistance of flower buds depends on the duration of their development phases in the winter-spring period. As a result of many years of research by Sholokhov A.M., Yablonsky E.A., Elmanov S.I., it was established that the buds exhibit maximum frost resistance during the period of formation of sporogenous tissue in the anthers, which coincides with the period of deep or biological dormancy. During the period of formation of one- or two-cell pollen, generative buds are the least resistant to low temperatures.

To identify the sources of increased frost resistance of flower buds, in January-February 2022-2024, multiple freezing of one-year shoots of 12 nectarine varieties and forms bred by NBG-NNC was carried out in the climatic test chamber "TTS 256 MemmertC PO" at temperatures from -13°C to -20°C in different phases of flower bud morphogenesis. For the experiment, shoots cut from different sides of the middle part of the crown with a length of 20-30 cm were used. The total number of buds studied in each variant was 100 pcs. (5-10 shoots).

As a result of six freezing tests of nectarine varieties and forms, five accessions with increased frost resistance (36.6- 50.6% damage) were selected: Legenda, Nektakulj 142-91, Neugasimy, Rubinovy 4, Khoni 945-89. Five varieties and forms were noted with severe bud damage (52.2-71.3%): Krymchanin, Ametist, Nikitsky 85, Rubinovy 7, Elbertaziya 496-85 and two accessions with very severe (83.0-84.2%): Krymtsukht, Sergo. In general, for varieties, the average bud loss was 59.3%, and the coefficient of variation of the trait was 27.3%. During freezing in January, the studied nectarine genotypes were observed to have the following phases of morphogenesis development: sporogenous tissue, microsporocytes, microspore tetrads; in February – microspore tetrads, microspores and formation of unicellular pollen. Five nectarine samples selected with slight damage to generative buds are of interest as sources of frost resistance for use in hybridization and for further selection.

**Keywords:** nectarine, varieties, forms, artificial freezing, frost resistance of flower buds

## ПРИМЕНЕНИЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ УСКОРЕННОЙ СЕЛЕКЦИИ КАПУСТЫ БЕЛОКОЧАННОЙ

Минейкина А. И. , Домблидес Е. А. , Домблидес А. С. , Бондарева Л. Л.

ФГБНУ "Федеральный научный центр овощеводства"  
[anna-batmanova@mail.ru](mailto:anna-batmanova@mail.ru)

Капуста белокочанная (*B. oleracea* L. convar *capitata* (L.) Alef. var. *capitata* L. f. *alba* DC) выращивается более чем в 90 странах мира и является одной из основных овощных культур России. По уровню потребления она занимает третье место (после зерновых и картофеля), а по объему выращивания - лидирующее место среди овощных культур. Учитывая биологические особенности этой культуры (перекрестноопыляемая, с двухлетним циклом развития, требующая длительного периода яровизации) селекционный процесс по созданию линий для гетерозисных гибридов F1 требует больших временных и трудовых затрат, сократить которые возможно только с использованием самых последних передовых биотехнологий. Технология культуры изолированных микроспор *in vitro* существенно ускоряет этапы селекции растений за счет быстрого (за 1-2 года) получения удвоенных гаплоидов (от англ. Doubled Haploid (DH)) – чистых линий со 100% гомозиготностью, потомство которых не расщепляется в последующих поколениях. Главными факторами, сдерживающими широкое применение технологии, являются генотипспецифичная реакция растений на индукцию андрогенеза при введении в культуру *in vitro* мужского гаметофита и низкая частота регенерации побегов из эмбриоидов.

Для возможности практического использования DH - технологии в селекционном процессе необходим высокий уровень ее эффективности, который можно достичь за счет выявления и модификации потенциально взаимодействующих факторов, влияющих на основные этапы технологии: индукцию гаплоидного эмбриогенеза, удвоение хромосомного набора, регенерацию удвоенных гаплоидов и получение семенного потомства. В результате исследований нами были выявлены и модифицированы основные критические факторы, влияющие на успешность эмбриогенеза капусты белокочанной. К ним относятся: стадия развития микроспор, высокотемпературный стресс и кислотность питательной среды. Индукцию андрогенеза наблюдали при введении в культуру *in vitro* микроспор на поздней вакуолизированной стадии и на стадии ранней двухклеточной пыльцы. При этом максимальный выход эмбриоидов был достигнут при сочетании высокотемпературной шоковой обработки микроспор при 32°C в течении 2 суток и рН питательной среды NLN-13 5,8-6,0.

Регенерация проростков из эмбриоидов, достигших семядольной стадии, была успешной при использовании агаризованных питательных сред: безгормональной среды MS и среды B5 с добавлением 1 мг/л 6-бензиламинопурина (БАП) и 0,1 мг/л гиббереллиновой кислоты.

Благодаря полному комплексу условий для успешного эмбриогенеза микроспор капусты белокочанной был достигнут максимальный выход эмбриоидов - 257,33±21,67шт./чашку Петри. Использование проточной цитометрии на ранних этапах развития DH-растений позволило отделить удвоенные гаплоиды от гаплоидов, тетраплоидов и миксоплоидов. Анализ с микросателлитными (SSR) маркерами показал наличие всего одной аллели у полученных растений, что может подтверждать их гомозиготное состояние.

**Ключевые слова:** капуста белокочанная, удвоенные гаплоиды, культура изолированных микроспор *in vitro*.

## USING BIOTECHNOLOGICAL AND MOLECULAR GENETIC METHODS FOR ACCELERATED SELECTION OF WHITE CABBAGE

Mineykina A. , Domblides E. , Domblides A. , Bondareva L.

*FSBSI Federal Scientific Vegetable Center*  
[anna-batmanova@mail.ru](mailto:anna-batmanova@mail.ru)

White cabbage (*B. oleracea* L. convar *capitata* (L.) Alef. var. *capitata* L. f. *alba* DC) is grown in more than 90 countries of the world and is one of the main vegetable crops of Russia. In terms of consumption, it ranks third (after cereals and potatoes), and in terms of cultivation volume, it is the leader among vegetable crops. Taking into account the biological specifics of this crop (cross-pollinated, with a two-year cycle of development, requiring a long period of vernalization), the selection process to develop lines for heterosis F1 hybrids requires a lot of time and labor costs, which can be reduced only by using the latest advanced biotechnology. *In vitro* culture of isolated microspores *in vitro* significantly accelerates the stages of plant breeding by quickly (1-2 years) obtaining Doubled Haploid (DH). - pure lines with 100% homozygous, the progeny of which are not split in subsequent generations. The main factors limiting the wide application of the technology are the genotype-specific response of plants to the induction of androgenesis when the male gametophyte is introduced into *in vitro* culture and the low frequency of shoot regeneration from embryoids.

For the possibility of practical use of DH-technology in the breeding process, a high level of its efficiency is required, which can be achieved by identifying and modifying potentially interacting factors affecting the main stages of the technology: induction of haploid embryogenesis, doubling of the chromosome set, regeneration of doubled haploids and production of seed progeny. As a result of our research, we identified and modified the main critical factors affecting the success of white cabbage embryogenesis. These include: microspore developmental stage, high temperature stress and acidity of the nutrient medium. Induction of androgenesis was observed when microspores at the late vacuolized stage and at the early two-cell pollen stage were introduced into *in vitro* culture. The maximum yield of embryoids was achieved with a combination of high-temperature shock treatment of microspores at 32°C for 2 days and pH of nutrient medium NLN-13 5.8-6.0.

Regeneration of shoots from embryoids that had reached the cotyledon stage was successful using agarized nutrient media: hormone-free MS medium and B5 medium supplemented with 1 mg/L 6-benzylaminopurine (BAP) and 0.1 mg/L gibberellic acid.

As a result of a full complex of parameters for successful embryogenesis of white cabbage microspores, the maximum yield of embryoids was reached -  $257.33 \pm 21.67$  sht./Petri dish. The use of flow cytometry early in the development of DH plants allowed us to separate doubled haploids from haploids, tetraploids, and mixoploids. Analysis with microsatellite (SSR) markers showed the presence of only one allele in the obtained plants, which may confirm their homozygous state.

**Keywords:** white cabbage, doubled haploids, isolated microspore culture *in vitro*.



## **ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ГЕНОВ КОДИРУЮЩИХ ФАКТОРЫ ИНИЦИАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ eIF4E С ПОМОЩЬЮ РНК-ИНТЕРФЕРЕНЦИИ И ГЕНОМНОГО РЕДАКТИРОВАНИЯ КАК СПОСОБ ДОСТИЖЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ УСТОЙЧИВОСТИ КАРТОФЕЛЯ К ВИРУСУ PVY**

**Мирошниченко Д. Н.<sup>1,2</sup>, Тимербаев В. Р.<sup>1,2</sup>, Киров И. В.<sup>2</sup>, Клементьева А. А.<sup>1</sup>, Сидорова Т. Н.<sup>1</sup>, Пушин А. С.<sup>1,2</sup>, Долгов С. В.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> *Филиал ФГБНУ ГНЦ Института биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пуцзино*

<sup>2</sup> *ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва*  
[miroshnichenko@bibch.ru](mailto:miroshnichenko@bibch.ru)

Радикальное снижение вредоносности вирусных инфекций у с/х культур возможно только при создании устойчивой генетической резистентности растений. Из-за зависимости вирусов от трансляционного и транскрипционного аппаратов растения-хозяина, изменение функциональной активности генов, кодирующих их компоненты, может обеспечить генетическую устойчивость к вирусной инфекции. В нашей работе для получения растений картофеля устойчивых к вирусу PVY, одного из наиболее вредоносных вирусных патогенов, мы использовали два генно-инженерных подхода. Первый основан на использовании РНК-интерференционных шпилечных конструкций для замалчивания генов факторов инициации трансляции eIF4E1 и eIF4E2. Второй - на внесении нокаутных мутаций в последовательности этих генов с помощью системы редактирования генома CRISPR/Cas9. Сравнительный анализ трансгенных растений картофеля показал, что устойчивость к заражению штаммами PVYNTN и PVYO определяется выбором промотора для экспрессии интерференционной кассеты. Ряд трансгенных линий, в которых RNAi шпилька находилась под промотором StLhca, демонстрировали почти полное отсутствие характерных признаков вирусной инфекции в течение трех-шести недель после заражения. Нозерн блот и RNAseq анализы подтвердили, что устойчивость является следствием накопления интерферирующих малых РНК, соответствующих последовательностям eIF4E1 и eIF4E2. Транскриптомный анализ показал, что нокаун генов eIF4E вызвал изменение дифференциальной экспрессии около 6 тыс. генов, что привело к ряду фенотипических изменений, в основном связанных с развитием генеративных органов, при этом клубнеобразование не пострадало. Аналогичные изменения были обнаружены у вирусостойчивых растений, полученных в результате нокаута аллелей eIF4E1 и eIF4E2 с помощью CRISPR/Cas9. При этом одно- и двух-аллельные мутации в генах не приводили к устойчивости, тогда как наличие 3-4 нокаутных аллелей eIF4E обеспечивало ощутимую резистентность к заражению PVY. Устойчивость трансгенных и геномно отредактированных растений стабильно сохранялась в дальнейших генерациях, полученных из клубней.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 22-14-00118.

## MODIFICATION OF THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF GENES ENCODING TRANSLATION INITIATION FACTORS EIF4E USING RNA INTERFERENCE AND GENOME EDITING AS A WAY TO ACHIEVE GENETIC RESISTANCE OF POTATO TO THE PVY VIRUS

Miroshnichenko D. <sup>1,2</sup>, Timerbaev V. <sup>1,2</sup>, Kirov I. <sup>2</sup>, Klementyeva A. <sup>1</sup>, Sidorova T. <sup>1</sup>, Pushin A. <sup>1,2</sup>, Dolgov S. <sup>1,2</sup>

*Branch of Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Pushchino  
Federal State Budgetary Scientific Institution All-Russian Research Institute of Agricultural  
Biotechnology, Moscow*

[miroshnichenko@bibch.ru](mailto:miroshnichenko@bibch.ru)

A radical reduction in harmful viral infections of crops is possible only through strong genetic resistance of plants. Viruses reproduce via the translational and transcriptional apparatus of the host plant, so changing the functional activity of the genes encoding their components can provide genetic resistance. In our work, two gene engineering approaches have been used to obtain resistance to PVY, one of the most harmful viral pathogens of potato. The first approach involves the transfer of RNA interference hairpin constructs to suppress the genes encoding the translation initiation factors *eIF4E1* and *eIF4E2*. The second approach is the induction of knockout mutations in the sequence of the same genes using the CRISPR/Cas9 editing system.

It was found that resistance to infection by PVYNTN and PVYO strains is determined by the choice of a promoter to drive the RNA interference expression cassette. A number of transgenic lines expressing the RNAi hairpin under the *StLhca* promoter showed no viral symptoms for three to six weeks after infection. Northern blotting and RNAi analysis confirmed that resistance was associated with the accumulation of small interfering RNAs corresponding to the *eIF4E1* and *eIF4E2* sequences.

Transcriptomic analysis showed that *eIF4E* gene knock-down caused changes in the differential expression of more than 6,000 genes. This resulted in a number of phenotypic changes, mainly related to the development of generative organs, while tuber formation was not affected.

Similar changes were found in virus-resistant plants obtained by knocking out *eIF4E1* and *eIF4E2* alleles using CRISPR/Cas9. Single- and dual-allelic mutations did not confer resistance, whereas the presence of 3-4 knockout alleles of the *eIF4E* genes provided resistance to PVY infection. The resistance of transgenic and genome-edited plants was stably maintained in subsequent vegetative generations obtained from tubers.

The research was supported by the Russian Science Foundation, # 22-14-00118.

**КАЛЛУСОГЕНЕЗ И РЕГЕНЕРАЦИИ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO* PINUS SYLVESTRIS****Моисеева Е. А. , Степанова А. Ю. , Карташов А. В. , Злобин И. Е.***ФГБУН "Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН", Москва  
[violetsusanoo@gmail.com](mailto:violetsusanoo@gmail.com)*

Сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.) является наиболее распространенным видом из рода *Pinus* в мире. Широко распространена на территории Евразии от Западной Европы до Восточной Сибири. Сосна имеет большое экономическое значение, так как ее древесина используется в различных отраслях промышленности и в строительстве. Однако до сих пор не решена проблема получения высокопродуктивных деревьев. Для ее решения перспективно использовать методы биотехнологии, в частности культивирование растительного материала *in vitro*. Известно, что голосеменные являются более сложными для работы объектами, по сравнению с покрытосеменными, а сосна обыкновенная считается особенно трудной для культивирования *in vitro* даже среди других представителей рода *Pinus*. Вследствие этого не разработан эффективный протокол по введению в культуру *in vitro* и морфогенезу *Pinus sylvestris*. Целью нашей работы являлся подбор условий для получения каллусов *Pinus sylvestris* L. и регенерации из них растений.

Семена для исследования стерилизовали 96% спиртом 5 секунд и 20% коммерческим отбеливателем "Белизна" 15 минут, трижды ополаскивали стерилизованной дистиллированной водой. Стерильные семена помещали в чашки Петри на агаризованную среду MS (2% сахарозы) без добавления гормонов и культивировали при температуре 25°C и 24 часовом освещении. На 7-10 сутки наблюдали прорастание семян, общий процент всхожести составил 30%. У 1-2 недельных проростков отделяли гипокотиль и помещали на питательную агаризованную среду MS (2% сахарозы, 500 мг/л казеина и 500 мг/л L-глутамин) с добавлением 1,0 мг/л 2,4-Д и 0,1 мг/л БАП, а также MS с добавлением 5,0 мг/л БАП и 0,5 мг/л НУК. На 10-12 сутки наблюдали образование каллуса с частотой 80% на среде с 2,4-Д и БАП и 45% – на среде БАП и НУК. Цикл культивирования составлял 28 дней. Однако спустя 2 недели наблюдали некротизацию 90% каллусов на среде с БАП и НУК. На 50-60 сутки культивирования наблюдали спонтанное побегообразование, более активное – на среде с содержанием 2,4-Д и БАП. Микропобеги были перенесены в пробирки со средой MS с добавлением 1 мг/л ИУК, 1% сахарозы для дальнейшего укоренения.

Таким образом, нами были подобраны условия стерилизации семян и получение каллусов *Pinus sylvestris* L.. Показано, что среда MS с добавлением 1,0 мг/л 2,4-Д и 0,1 мг/л БАП является универсальной как для каллусообразования, так и для получения микропобегов *Pinus sylvestris* L..

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

CALLUSOGENESIS AND REGENERATION IN *PINUS SYLVESTRIS* IN VITRO CULTURE

Moiseeva E. A. , Stepanova A. Y. , Kartashov A. V. , Zlobin I. E. K.A.

*Timiryazev Institute of Plant Physiology Russian Academy of Sciences*  
[violetsusanoo@gmail.com](mailto:violetsusanoo@gmail.com)

Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) is the most widespread species of the genus *Pinus* in the world. It is widespread in Eurasia, ranging from Western Europe to Eastern Siberia. Pine has high economic importance, as its wood is used in various branches of industry and in construction. However, the problem of obtaining highly productive trees has not yet been solved. To solve it, it is promising to use biotechnology methods, in particular the *in vitro* cultivation of plant material. It is known that gymnosperms are more difficult to work with than angiosperms, and Scots pine is considered especially difficult to cultivate *in vitro*, even among other plants of the genus *Pinus*. As a result, an effective protocol for the initiation of *in vitro* culture and morphogenesis of *Pinus sylvestris* has not been developed. The purpose of our work was to select conditions for obtaining the callus cultures and the regeneration of plants from them.

The seeds for the study were sterilized with 96% alcohol for 5 seconds and 20% commercial bleach "Belizna" for 15 minutes, rinsed three times with sterilized distilled water. Sterile seeds were placed in Petri dishes on an agarized medium MS (2% sucrose) without hormonal additives and cultivated at 25°C and 24 hours of illumination.

The first signs of seed germination were detected after 7-10 days, the total germination rate was 30%. Hypocotyl was separated from 1-2 week old seedlings and placed on the surface of MS medium (2% sucrose, 500 mg/l casein and 500 mg/l L- glutamine) with the addition of 1.0 mg/l 2,4-D and 0.1 mg/l BAP, as well as MS with the addition of 5.0 mg/l BAP and 0.5 mg/l of NAA. On the 10-12th day the initial signs of formation of the callus were detected with a frequency of 80% on a medium with 2,4-D and BAP and 45% on a medium with BAP and NAA. The cultivation cycle was 28 days. However, after 2 weeks, necrotization of 90% of calluses was observed on a medium with BAP and NAA. Spontaneous shoot formation was detected after 50-60 days of cultivation, more active on a medium containing 2,4-D and BAP. The microshoots were transferred to tubes with MS medium with the addition of 1 mg/l IAA, 1% sucrose for further rooting.

Therefore, we selected the conditions for seed sterilization and the production of *Pinus sylvestris* L. calluses. It was shown that the MS medium with the addition of 1.0 mg/l 2,4-D and 0.1 mg/l BAP is universal both for callus formation and for the production of *Pinus sylvestris* L. microshoots.

**Keywords:** Scots pine, *in vitro* culture, callus, morphogenesis, regenerated plants

**ЗАМАЛЧИВАНИЕ ГЕНОВ ФАКТОРОВ ИНИЦИАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ  
*eIF(iso)4G* И *eIF(iso)4E* КАК СПОСОБ ПОВЫШЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ  
КОСТОЧКОВЫХ КУЛЬТУР К ВИРУСУ ОСПЫ СЛИВЫ НА ПРИМЕРЕ КЛОНОВОГО  
ПОДВОЯ 146-2**

**Муренец Л. Ю.<sup>1,3</sup>, Пушин А. С.<sup>1,2</sup>, Тимербаев В. Р.<sup>1,2,3</sup>, Хмельницкая Т. И.<sup>1</sup>,  
Грибков Э. Е.<sup>4</sup>, Андреев Н. С.<sup>4</sup>, Долгов С. В.<sup>1,2,3</sup>**

<sup>1</sup> Филиал ФГБУН Института Биоорганической химии РАН, Россия, г.Пуццино

<sup>2</sup> ФГБНУ Всероссийский Научно-Исследовательский Институт Сельскохозяйственной Биотехнологии РАН, Россия, Москва

<sup>3</sup> ФГБУН «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад — Национальный научный центр РАН», Россия, Республика Крым, г.Ялта

<sup>4</sup> НИ Томский Государственный Университет, Россия, г.Томск

[lilla@mail.ru](mailto:lilla@mail.ru)

Болезнь Шарки, вызываемая вирусом оспы сливы (PPV), представляет собой одно из наиболее вредоносных, карантинных вирусных заболеваний, которое поражает деревья персика, сливы, абрикоса, вишни и черешни, а также декоративные растения и подвои. Отсутствие природной резистентности к вирусу у косточковых стало решающим фактором для применения методов генетической трансформации для получения устойчивых форм. Гены *eIF(iso)4G* и *eIF(iso)4E* кодируют факторы инициации трансляции, которые используются в жизненном цикле вируса Шарки. Влияние замалчивания этих генов с помощью метода РНК-интерференции на устойчивость растений подвоя 146-2 к вирусу представлено в данной работе. Для генетической трансформации растений созданы два вектора, с самокомплементарными последовательностями фрагмента генов *eIF(iso)4G* и *eIF(iso)4E* под контролем сильного промотора гена рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы/оксигеназы (RuBisCo). Успешная генетическая трансформация была проведена штаммом *SBE21 A. tumefaciens*. В качестве источника эксплантата использовали целые листья побегов, культивируемых *in vitro*. В экспериментах получено 8 независимых трансгенных линий подвоя 146-2. Их статус подтвержден ПЦР и Саузерн-блоттингом. Полученные растения были акклиматизированы в условиях теплицы. Замалчивание генов *eIF(iso)4G* и *eIF(iso)4E* в этих линиях подтверждено методом количественного ПЦР. Растения всех трансгенных линий подвоя были инфицированы вирусом Шарки методом окулировки зараженными почками. Устойчивость полученных растений оценивалась методом иммуноферментного анализа. Результаты ИФА показали, что растения одной линии с замалчиванием гена фактора *eIF(iso)4E* проявили устойчивость к вирусу Шарки в течение двух лет после инфицирования.

**Ключевые слова:** вирус оспы сливы, клоновой подвой, косточковые, генетическая трансформация, РНК-интерференция, фактор инициации трансляции

SILENCING THE GENES OF TRANSLATION INITIATION FACTORS  
*eIF(iso)4G* AND *eIF(iso)4E* AS A METHOD FOR INCREASING THE RESISTANCE OF  
STONE FRUIT CROPS TO PLUM POX VIRUS ON THE EXAMPLE OF CLONAL  
ROOTSTOCK 146-2

Mourenets L. Yu.<sup>1,3</sup>, Pushin A. S.<sup>1,2</sup>, Timerbaev V. R.<sup>1,2,3</sup>, Khmel'nitskaya T. I.<sup>1</sup>,  
Gribov E. E.<sup>4</sup>, Andreev N. S.<sup>4</sup>, Dolgov S. V.<sup>1,2,3</sup>

1. The Branch of the Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia
2. All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology, Russian Academy of Science, Moscow, Russia
3. Nikita Botanical Gardens – National Scientific Centre, Russian Academy of Sciences, Yalta, Russia,
4. The National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia  
[lilla@mail.ru](mailto:lilla@mail.ru)

Sharka disease, caused by the plum pox virus (PPV), is one of the most harmful, quarantine viral diseases that affects peach, plum, apricot, cherry and cherry trees, as well as ornamental plants and rootstocks. The absence of natural resistance to the virus in stone fruits has become a decisive factor for the use of genetic transformation methods to obtain stable forms. The *eIF(iso)4G* and *eIF(iso)4E* genes encode translation initiation factors that are used in the life cycle of the Sharky virus. The effect of silencing these genes using the RNA interference method on the resistance of rootstock 146-2 plants to the virus is presented in this paper. Two vectors have been created for the genetic transformation of plants, with selfcomplementary sequences of the *eIF(iso)4G* and *eIF(iso)4E* gene fragments under the control of a strong promoter of the ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (RuBisCo) gene. A successful genetic transformation was carried out by the CBE21 strain of *A. tumefaciens*. Whole leaves of shoots cultivated in vitro were used as a source of explants. 8 independent transgenic lines of rootstock 146-2 were obtained in experiments. Their status was confirmed by PCR and Southern Blotting. The obtained plants were acclimatized in a greenhouse. The silencing of the *eIF(iso)4G* and *eIF(iso)4E* genes in these lines was confirmed by quantitative PCR. Plants of all transgenic rootstock lines were infected with Sharka virus by the method of oculation with infected buds. The stability of the obtained plants was evaluated by enzyme immunoassay. The ELISA results showed that plants of the same lineage with silencing of the *eIF(iso)4E* factor gene showed resistance to the Sharka virus for two years after infection.

**Keywords:** Plum pox virus, clonal rootstock, stone fruits, genetic transformation, RNA-interference, translation initiation factor.

## ПОЛУЧЕНИЕ РЕГЕНЕРАНТОВ РЕДКОГО ДЛЯ ЮГА РОССИИ ВИДА *POPULUS LAURIFOLIA* LEDEB. В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Настинава Г. Э.

ФГБОУ ВО Калмыцкий государственный университет имени Б.Б. Городовикова  
[nastinova.ge@yandex.ru](mailto:nastinova.ge@yandex.ru)

В Республике Калмыкия, расположенной в полупустынной зоне юга-востока европейской части Ро произрастает единственный экземпляр представителей секции бальзамических тополей (*Tasamahaca Spach*) подрода *Europulus (Spach) Penjkovsky*, рода Тополей – тополь лавролистный (*Populus laurifolia Ledeb.*). Учитывая ценные эколого- биологические особенности свойства тополя лавролистного, вопрос его сохранения и использования в Калмыкии является актуальным.

Тополя были одними из первых объектов исследований по размножению *in vitro* (Gautheret, 1934; Mathes, 1964; Winton, 1970). Вместе с тем, данных, о получении регенерантов вида *Populus laurifolia Ledeb.* в культуре *in vitro*, мы не обнаружили.

В статье рассматривается актуальная проблема сохранения генофонда Тополя лавролистного (*P. laurifolia Ledeb.*) в культуре *in vitro*.

Целью исследования, проведенного авторами, стала разработка и оптимизация технологии клонально микроразмножения ценного генотипа *P. Laurifolia Ledeb.* и создание банка стерильных культур изучаемого вида, как перспективного для интродукции и широкого использования при создании насаждений различного целевого назначения.

Исходным материалом служили пазушные почки одно-двухлетних побегов Тополя лавролистного (*P. laurifolia Ledeb.*), отобранные в апреле 2021 года. В статье представлены приемы работы с культурой изолированных органов и тканей *P. laurifolia Ledeb.* на всех этапах клонального микроразмножения, от подбора оптимального режи стерилизации до адаптации растений-регенерантов к условиям *in vivo*. За основу разработки ме биотехнологических исследований с культурой изолированных тканей и органов Тополя лавролистного приняты как общепринятые классические приемы работ, так и методы, разработанные в лаборатории биотехнологии ВРБС. В результате проведенных исследований установлено, что реализация морфогенетического потенциала тополя лавролистного зависит от генотипа, соответствующей оптимизации состава питательной среды (минеральный состав, соотношение гормонов), типа первичного экспланта и времени изоляции. Оптимальным стерилизующим соединением для тополя лавролистного является 5% лизоформин, время экспозиции 5 минут, при этом выход жизнеспособных эксплантов составил 90%. В качестве индуктора ризогенеза оптимально использование ИУК в концентрации 1,0 мг/л. На данной питательной среде наблюдали максимальное количество корней –  $8 \pm 2,2$ . Для адаптации к условиям *in vivo* оптимально использовать двухстадийную адаптацию с использованием пищевой пленки. Выход адаптированных растений тополя лавролистного в наших опытах составил 75-90%.

Микроразмножение и массовое получение регенерантов ценного генотипа Тополя лавролистного (*P. laurifolia Ledeb.*) позволит за короткое время получить большое количество однородных растений, адаптивных к окружающей среде региона и создаст основу для сохранения вида в условиях *ex situ*. Использование тополя лавролистного для озеленения будет способствовать секвестрации углекислого газа, т.к. увеличение поголовья животноводства в регионе ведет к постоянной эмиссии углекислого газа в окружающую среду.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта ООО ПАО «ЛУКОЙЛ».

**Ключевые слова:** Юг России, Калмыкия, тополь лавролистный, регенеранты, культура *in vitro*, озеленение.

## OBTAINING REGENERANTS OF *POPULUS LAURIFOLIA* LEDEB A RARE SPECIES FOR THE SOUTH OF THE RUSSIAN FEDERATION IN VITRO

Nastinova G. E.

*Kalmyk State University named after B.B.Gorodovikov*  
*[nastinova.ge@yandex.ru](mailto:nastinova.ge@yandex.ru)*

The Republic of Kalmykia is located in the semi - desert area of the South European Russia. The only specimen of the balsam poplar section (*Tacamahaca Spach*) subsection *Eupopulus (Spach) Penjkovsky*, genus Poplar- poplar laurel (*Populus laurifolia Ledeb*) grows here. Considering the valuable ecological and biological features of the laurel-leaf poplar, the issue of its preservation and use in Kalmykia is urgent.

Poplars were among the first subjects of in vitro propagation studies (Gautheret, 1934; Mathes, 1964; Winton, 1970). At the same time, we haven't found the data on obtaining regenerants of species *Populus laurifolia Ledeb in vitro*.

The article deals with the urgent problem of preserving the gene pool of the poplar laurel-leaf tree (*Populus laurifolia Ledeb*) in vitro culture.

The aim of the research conducted by the authors was to develop and optimize the technology of clonal micro- propagation of valuable genotype *Populus laurifolia Ledeb* and creation of a data set of sterile cultures of the studied species as promising for introduction and wide use in growing plantations for various purposes.

The primary source material was axillary buds of one- to two-year-old shoots of laurel-leaf poplar (*Populus laurifolia Ledeb*) which were selected in April 2021. The article presents working techniques with isolated organs and tissues culture of *Populus laurifolia Ledeb* at all stages of clonal micropropagation, from selection of the optimal sterilization regime to adaptation of regenerant plants to in vivo conditions. The basis for the development of the methodology of biotechnological research with isolated tissues and organs culture of laurel leaf poplar was generally accepted classical methods of work as well as methods developed in the laboratory of biotechnology of Volgograd Regional Botanical Garden. The findings of this research have established that the development of morphogenetic potential of laurel-leaf poplar depends on genotype, appropriate optimization of nutrient medium composition (mineral composition, hormone ratio), primary explant type and isolation time. The optimal sterilizing compound for laurel-leaf poplar is 5% lysoformin, exposure time is 5 minutes, the yield of viable explants was 90%. As an inducer of rhizogenesis, it is optimal to use UIC at a concentration of 1.0 mg/l. The highest number of roots –  $8 \pm 2,2$  were observed on this nutrient medium. For in vivo adaptation, a two-stage adaptation using food film is optimal. The output of adapted plants of laurel-leaf poplar in our experiments amounted to 75-90%.

Micro propagation and mass production of regenerants of valuable genotype of laurel-leaf Poplar will produce a large number of homogeneous plants adaptive to the environment of the region in a short period of time and will create a basis for the conservation of the species in the conditions of ex situ. The use of laurel-leaf poplar for landscaping will promote carbon dioxide sequestration as the increase in livestock production in the region leads to constant emission of carbon dioxide into the environment.

The research is financially supported by the grant of LUKOIL LTD.

**Keywords:** the South of Russia, Kalmykia, laurel-leaf poplar, regenerants, culture of in vitro, landscaping



**DRACOSEPHALUM JACUTENSE PESCHKOVA: ИЗУЧЕНИЕ И ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ IN VITRO РЕДКОГО ВИДА РАСТЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ САХА (ЯКУТИЯ)****Охлопкова Ж.М.<sup>1</sup>, Разгонова М.П.<sup>2</sup>, Кучарова Е.В.<sup>1</sup>, Егоров Ю.А.<sup>1</sup>, Заболоцкая А.П.<sup>1</sup>**<sup>1</sup>ФГАОУ ВО "Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова"<sup>2</sup>Дальневосточная опытная станция ВИР, Владивосток[zhm.okhlopkova@s-vfu.ru](mailto:zhm.okhlopkova@s-vfu.ru)

На территории Республики Саха (Якутия), где характерны резко-континентальный климат, близкое сплошное залегание вечной мерзлоты, и практически 7 месяцев в году сохраняется снежное покрытие, произрастает 5 видов рода *Dracoscephalum* L.: *Dracoscephalum palmatum* Steph., *Dracoscephalum guyschiana* L., *Dracoscephalum nutans* L., *Dracoscephalum stellerianum* Hiltebr. и *Dracoscephalum jacutense* Peschkova. Все виды распространены на разных природных фитоценозах. Самую узкую распространенность из них имеет змееголовник якутский, он произрастает на каменистых разреженных степных склонах в окрестностях села Сангар Кобяйского района. К настоящему времени сохранилось всего три небольшие ценопопуляции, и вид занесен в Красную книгу Якутии по категории редкости 1 (2017). Вид интродуцирован в Ботаническом саду Якутии с 2011 года, при котором отмечено нерегуляр семеношение и малый объем семян, что является уязвимым моментом в культивировании и поддержании оптимальной численности вида в коллекции.

Целью данного исследования является изучение и введение в культуру *in vitro* редкого вида *Dracoscephalum jacutense*. Во время экспедиционных работ на территории Кобяйского района Якутии в июле и августе 2022-2023 гг. было выполнено геоботаническое описание фитоценозов и был собран растительный материал для исследования (N 63°53'52.5-72.8"; E 127°30'39.9-49").

На трех ценопопуляциях змееголовника якутского были заложены опытные площадки размером 10x10 кв.м., где общее проективное покрытие составило от 40 до 80 %, в среднем в фитоценозах было представлено 18-19 видов, проективное покрытие *Dracoscephalum jacutense* (сop 1) составило от 10 до 45 %.

Собранную надземную фитомассу змееголовника якутского сушили, измельчали и использовали приготовления метанольных экстрактов. С помощью ВЭЖХ-МС/МС в метанольном экстракте листьев, стеблей и соцветий змееголовника якутского был обнаружен комплекс полифенольных соединений, который включает 32 флавонола, 12 флавонолов, 6 флаван-3-олов, 7 флаванолов, 17 фенольных кислот, 2 лигнана, 1 дигидрохалкон, 4 кумарина и 8 антоцианидинов. Из других групп соединений в надземной фитомассе растения были обнаружены каротиноиды, омега-3-жирные кислоты, омега-5-жирные кислоты, аминокислоты, пурины, алкалоиды и стеролы. В целом в надземной фитомассе змееголовника якутского было обнаружено 56 полифенолов, ранее не описанных для представителей рода *Dracoscephalum* L.

Был разработан и оптимизирован протокол стерилизации семян для культивирования стерильных проростков на безгормональной питательной среде МС. На 7-ые сутки проростки переносили на питательную среду МС с добавлением 1 мг/л ИМК. На 30-ые сутки от развитой корневой системы проростков змееголовника якутского брали кусочки корней и пересаживали на питательную среду МС с добавлением 2,4-Д (1 мг/л), БАП (1 мг /л), НУК (1 мг/л) для инициации каллусогенеза *in vitro*. При культивировании корневых эксплантов в темноте при комнатной температуре на 21-ые сутки наблюдали развитие первичных каллусов. На стабильно растущих каллусах змееголовника якутского с циклом роста в 30 суток изучена динамика роста сырого и сухого веса при культивировании на питательной среде МС с разным соотношением фитогормонов. При этом на питательной среде МС с добавлением 2,4-Д (0,5 мг/л), БАП (1 мг/л), НУК (1 мг/л) наблюдается максимальный рост биомассы каллуса. Кроме этого, начато изучение генетической стабильности в стерильных проростках и каллусах по сравнению с дикорастущим растением с помощью RAPD биоинформационного анализа. Полученные каллусные культуры змееголовника якутского будут использованы для инициации непрямого морфогенеза *in vitro* к разработке технологии клонального микроразмножения данного узколокального эндемика и редкого вида Якутии.

Исследование выполнено в Северо-Восточном федеральном университете за счет гранта Российского научного фонда No22–14–20031, <https://rscf.ru/project/22-14-20031/>.

DRACOCEPHALUM JACUTENSE PESCHKOVA: STUDY AND INTRODUCTION TO IN VITRO CULTURE OF A RARE PLANT SPECIES OF THE REPUBLIC OF SAKHA (YAKUTIA)

Okhlopkova Z. M.<sup>1</sup>, Razgonova M. P.<sup>2</sup>, Kucharova E. V.<sup>1</sup>, Egorov Y. A.<sup>1</sup>, Zabolotskaya A. P.<sup>1</sup>

1 North-Eastern Federal University, Yakutsk  
2 Far Eastern experimental station VIR, Vladivostok  
[zhm.okhlopkova@s-vfu.ru](mailto:zhm.okhlopkova@s-vfu.ru)

In the Republic of Sakha (Yakutia), characterized by a sharply continental climate, extensive permafrost, and nearly 7 months of snow cover per year, there are five species of the genus *Dracocephalum* L.: *Dracocephalum palmatum* Steph., *Dracocephalum ruyschiana* L., *Dracocephalum nutans* L., *Dracocephalum stellerianum* Hiltebr., and *Dracocephalum jacutense* Peschkova. All these species are distributed across different natural phytocenoses. The most narrowly distributed species among them is *Dracocephalum jacutense*, which grows on rocky, sparse steppe slopes near the village of Sangar in the Kobyaisky district. Currently, only three small cenopopulations remain, and the species is listed in the Red Data Book of Yakutia under rarity category 1 (2017). The species was introduced in the Yakutian Botanical Garden since 2011, where irregular seed production and small seed volume have been noted, making it vulnerable in terms of cultivation and maintaining optimal numbers in the collection.

The aim of this study is to investigate and introduce the rare species *Dracocephalum jacutense* into *in vitro* culture. During expeditions in the Kobyaisky district of Yakutia in July and August of 2022-2023, a geobotanical description of phytocenoses was carried out and plant material was collected for research (N 63°53'52.5-72.8"; E 127°30'39.9-49"). Experimental sites measuring 10x10 sq.m. were established at three cenopopulations of *Dracocephalum jacutense*, where the total projective cover ranged from 40 to 80%. On average, 18-19 species were represented in the phytocenoses, with *Dracocephalum jacutense* having a projective cover (cop 1) ranging from 10 to 45%.

The collected aboveground phytomass of *Dracocephalum jacutense* was dried, ground, and used to prepare methanol extracts. Using HPLC-MS/MS, a complex of polyphenolic compounds was identified in the methanol extract of the leaves, stems, and inflorescences of *Dracocephalum jacutense*, including 32 flavones, 12 flavonols, 6 flavan-3-ols, 7 flavanones, 17 phenolic acids, 2 lignans, 1 dihydrochalcone, 4 coumarins, and 8 anthocyanidins. Other chemical groups detected in the aboveground phytomass included carotenoids, omega-3-fatty acids, omega-5-fatty acids, amino acids, purines, alkaloids, and sterols. In total, 56 polyphenols were found in *Dracocephalum jacutense*, which had not been previously described for representatives of the genus *Dracocephalum* L.

A protocol for seed sterilization was developed and optimized for cultivating sterile seedlings on a hormone-free MS medium. On the 7th day, seedlings were transferred to an MS medium supplemented with 1 mg/L IBA. On the 30th day, pieces of roots from the seedlings of *Dracocephalum jacutense* were transferred to an MS medium containing 2,4-D (1 mg/L), BAP (1 mg/L), and NAA (1 mg/L) for callus induction *in vitro*. Primary calluses were observed on the 21st day under darkness and room temperature conditions. The growth dynamics of wet and dry weight were studied on steadily growing calluses with a 30-day growth cycle on MS medium with different phytohormone ratios. Maximum callus biomass growth was observed on MS medium with 2,4-D (0.5 mg/L), BAP (1 mg/L), and NAA (1 mg/L). Additionally, the genetic stability of sterile seedlings and calluses was initiated compared to the wild plant using RAPD-PCR and bioinformatic analysis.

The obtained callus cultures of *Dracocephalum jacutense* will be used for the initiation of indirect morphogenesis *in vitro* and for developing clonal micropropagation technology for this narrow-local endemic and rare species of Yakutia.

The study was carried out at the North-Eastern Federal University at the expense of the Russian Science Foundation Grant No. 22-14-20031, <https://rscf.ru/en/project/22-14-20031/>.

## КОЛЛЕКЦИЯ ЖИВЫХ РАСТЕНИЙ ЗЕМЛЯНИКИ САДОВОЙ НА СВЕРДЛОВСКОЙ ССС

Павлова О. А.<sup>1</sup>, Сорокопудов В. Н.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Свердловская селекционная станция садоводства -структурное подразделение ФГБНУ «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр УрО РАН»

<sup>2</sup>Ботанический сад ФГБНУ ВИЛАР  
[pavlova.olga.81@gmail.com](mailto:pavlova.olga.81@gmail.com)

Земляника садовая (*Fragaria ananassa* Duch.) условно ягода (плод Fraga, многоорешки) культура, произрастающая во всех регионах Российской Федерации и за её пределами, в числе первых открывает сезон потребления свежей ягодной продукции. Ценится за неповторимый яркий вкус и аромат. Имеет богатый биохимический состав плодов. В Екатеринбурге, Свердловской области, Волго-Вятском регионе встречается в дикой природе. Культурные сорта различной селекции выращиваются любителями, владельцами садовых участков; малыми и большими Крестьянско- Фермерскими Хозяйствами; и крупными производителями сельскохозяйственной плодово-ягодной продукции.

Работы по сбору, изучению и сохранению коллекций живых растений земляники ведётся с 1940 года, сорта – доноры ценных хозяйственно-биологических признаков рекомендуются для использования в селекции и дл размножения посадочного материала.

Генетическая коллекция находящаяся в сортоизучении на 2024 год составляет 64 образца. Коллекционный материал представлен российской и зарубежной селекцией с разными сроками созревания и типами плодоношения. Изучение проводится в климатических условиях Среднего Урала, в открытом грунте, на естественном фоне, в соответствии с «Программой и методикой сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур»

В результате изучения сортов по комплексу признаков выделились сорта: Albion, Milan, Cabrillo, Murano, Harmony, Алтын, Дуэт, Избранница, Форсаж, Альтаир, Фестивальная .

по высокой урожайности: Alba, Albion, Zefyr, Isaura, Malling Pandora, Sonsation, Milan, Cabrillo, Murano, Harmony, Алтын, Дуэт, Избранница, Форсаж, Альтаир, Фестивальная (более 150 ц/га);

по высокой плотности ягоды: Albion, Asia, Elianny, Milan, Cabrillo, Murano, Harmony, Marigquette, Алтын, Дуэт, Избранница, Форсаж, Альтаир, Фестивальная (1200 г и более)

по зимостойкости: Alba, Albion, Zefyr, Isaura, Malling Pandora, Sonsation, Milan, Cabrillo, Murano, Harmony, Elianny, Marigquette Алтын, Дуэт, Избранница, Форсаж, Альтаир, Фестивальная (0,5-1 балл);

по дегустационной оценке: Тотем, Marigquette, Elianny, Cabrillo, Murano, Zefyr, Алтын, Альтаир, Фестивальная, Форсаж (4,7-5 баллов)

В планах работы по генетической паспортизации сортов Свердловской селекции, выявление генов отвечающих за передачу наследственных признаков урожайности, накопление сахаров, зимостойкости, засухоустойчивости устойчивости к вредителям и болезням и др.

## COLLECTION OF LIVE GARDEN STRAWBERRY PLANTS AT THE SVERDLOVSK SSS

Pavlova O. A.<sup>1</sup>, Sorokopudov V. N.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Sverdlovsk Horticulture Breeding Station - a structural unit of the Ural Federal Agrarian Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*

<sup>2</sup>*Botanical Garden FGBNU VILAR*

[pavlova.olga.81@gmail.com](mailto:pavlova.olga.81@gmail.com)

Garden strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.), conventionally a berry (Fraga fruit, many nuts), is a crop that grows in all regions of the Russian Federation and beyond its borders, and is among the first to open the season for the consumption of fresh berry products. Valued for its unique bright taste and aroma. It has a rich biochemical composition of fruits.

In Yekaterinburg, Sverdlovsk region, Volga-Vyatka region it is found in the wild. Cultivated varieties of various selections are grown by amateurs and garden plot owners; small and large Peasant Farms; and large producers of agricultural fruit and berry products.

Work on collecting, studying and preserving collections of living strawberry plants has been carried out since 1940; varieties that are donors of valuable economic and biological traits are recommended for use in breeding and for the propagation of planting material.

The genetic collection under variety study for 2024 is 64 samples. The collection material is represented by Russian and foreign selection with different ripening periods and types of fruiting.

The study is carried out in the climatic conditions of the Middle Urals, in open ground, against a natural background, in accordance with the "Program and methodology for the study of fruit, berry and nut crops".

As a result of studying varieties based on a set of characteristics, the following varieties were identified: Albion, Milan, Cabrillo, Murano, Harmony, Altyn, Duet, Izbrannitsa, Forsazh, Altair, Festivalnaya;

for high yields: Alba, Albion, Zefyr, Isaura, Malling Pandora, Sonsation, Milan, Cabrillo, Murano, Harmony, Altyn, Duet, Izanninitsa, Forsazh, Altair, Festivalnaya (more than 150 c/ha); for high berry density: Albion, Asia, Elianny, Milan, Cabrillo, Murano, Harmony, Mariguette, Altyn, Duet, Izanninitsa, Forsazh, Altair, Festivalnaya (1200g or more); for winter hardiness: Alba, Albion, Zefyr, Isaura, Malling Pandora, Sonsation, Milan, Cabrillo, Murano, Harmony, Elianny, Mariguette Altyn, Duet, Chosen One, Fast and Furious, Altair, Festivalnaya (0.5-1 point); by tasting assessment: Totem, Mariguette, Elianny, Cabrillo, Murano, Zefyr, Altyn, Altair, Festivalnaya, Forsazh (4.7-5 points).

Plans include work on genetic certification of varieties of Sverdlovsk selection, identification of genes responsible for the transmission of hereditary traits of productivity, accumulation of sugars, winter hardiness, drought resistance, resistance to pests and diseases, etc.

## СЕЛЕКЦИЯ И ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ЭМБРИОГЕННЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ LARIX SIBIRICA

Пак М. Э. , Орешкова Н. В. , Горячкина О. В. , Третьякова И. Н.

*Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН, ФИЦ КНЦ СО РАН*  
[mtetra99@bk.ru](mailto:mtetra99@bk.ru)

Авторами создана коллекция эмбриогенных культур лиственницы, включающая 54 активно пролиферирующие клеточные линии (КЛ), представленные эмбрионально-суспензорными массами. КЛ отличались по длительности культивирования, индексу роста культур и эмбриональной продуктивности, гормональным балансом и генетической стабильностью, определяемой по ядерным микросателлитным локусам и пloidности. Пролиферация отдельных КЛ продолжается более 14 лет. Соматические зародыши таких клеточных линий активно мультиплицируют через кливаж. Оценка генетической стабильности КЛ в процессе соматического эмбриогенеза проведена по цитогенетическому анализу показала, что молодые клеточные линии в возрасте от одного года до трех лет могут сохранять и содержать в кариотипе нормальное для данного вида диплоидное число хромосом  $2n=24$ . Микросателлитный анализ показал слабую изменчивость клеточных линий и соответствие их материнскому дереву-донору. В длительно пролиферирующих КЛ накапливаются мутации, и происходит изменение числа хромосом ( $2n = 25$ ;  $2n = 26$ ). У таких КЛ сохраняется способность формировать соматические зародыши. В коллекции выделяется КЛ6, которая в возрасте 6–11 лет являлась генетически стабильной с диплоидным числом хромосом  $2n = 24$  и имела слабую изменчивость по микросателлитным локусам. Из КЛ6 получены клонированные деревья лиственницы сибирской, которые в течение 9 лет успешно произрастают в условиях лесопитомника в экспериментальном хозяйстве «Погорельский бор» Института леса СО РАН (г. Красноярск). Клоны отличаются интенсивным ростом и сверххранением развитием генеративных органов (в семилетнем возрасте) и не повреждаются лиственничной почковой галлицей. Однако контролируемое опыление клонов пыльцой дерева-донора привело к нестабильности генома у полученных КЛ. У КЛ22.27.1 наблюдалась высокая частота мутаций. Эти мутации проявлялись в изменении числа хромосом и аллелей, наблюдаемые по ряду локусов. Не исключено, что в данном случае проявился эффект близкородственного скрещивания. Следовательно, проведение регулярного цитогенетического и микросателлитного контроля и селекция КЛ очень важны при клонировании растений через соматический эмбриогенез. Таким образом, соматический эмбриогенез является важной биотехнологией в размножении хвойных видов, в том числе для разработки производства сортов деревьев с желательными селекционными признаками. Данная технология может быть успешно реализована в крупномасштабном коммерческом производстве. Наиболее важным преимуществом производства хвойных деревьев методом соматического эмбриогенеза является то, что эмбриогенные клеточные линии могут быть криогенно сохранены в ювенильном состоянии неограниченно долго, что было невозможно при других методах размножения деревьев. При этом необходимо выявлять генетическую стабильность или нестабильность клеточных культур. Выявление клеточных линий с измененным хромосомным набором представляет большой интерес для генетики хвойных растений, а также вносит вклад в развитие теоретических аспектов репродуктивной биологии и в целом биологии развития.

Работа выполнена в рамках базового проекта «Биоразнообразие лесов Сиб экологодинамический, генетико-селекционный, физикохимический и ресурсно-технологический аспекты» (FWES-2024-0028).

## BREEDING AND GENOTYPING OF LARIX SIBIRICA EMBRYOGENIC CELL LINES

Park M. E. , Oreshkova N. V. , Goryachkina O. V. , Tretyakova I. N.

*V. N. Sukachev Institute of Forest Russian Academy of Sciences, Siberian Branch - Separate division of  
FRC KSC SB RAS (IF SB RAS)  
[mtetra99@bk.ru](mailto:mtetra99@bk.ru)*

The collection of proliferating embryogenic cultures of Siberian larch and its hybrids, created at the V.N. Sukachev Institute of Forestry SB RAS, includes 54 cell lines (CL). We have evaluated the genetic stability of these embryogenic cultures during somatic embryogenesis in vitro using nuclear microsatellite loci and cytogenetic analysis. Young CLs aged from one to three years can maintain cytogenetic stability and contain a normal for this species diploid chromosome number in the karyotype ( $2n = 24$ ). Microsatellite analysis showed weak variability of CLs and their correspondence with the donor tree. Mutations accumulate in long-term proliferating CLs and the chromosome numbers changes ( $2n = 25$ ,  $2n = 26$ ). These CLs retain the ability to form mature somatic embryos. One particularly interesting CL in the collection is CL6, which was cytogenetically stable at the age of 11 with a diploid chromosome number ( $2n = 24$ ). CL6 did not correspond to the genotype of the donor tree in only two alleles out of eleven loci. The clones derived from CL6 are in complete correspondence with the genotype of CL6, according to microsatellite analysis. Consequently, such CLs can be successfully used to produce planting material for plantation forestry. However, as a result of the controlled pollination of cloned trees with pollen from a donor tree, a CL22.27.1 with a high mutation rate was obtained. These mutations led to changes in the alleles observed at several loci and changes in chromosome number. It is possible that, in this case, the effect of a closely related crossing has been manifested. Therefore, regular cytogenetic and molecular genetic control of nuclear microsatellite loci is very important when cloning plants via somatic embryogenesis. Identifying CLs with abnormal chromosome numbers is a great interest for genetics of coniferous plants and contributes to the understanding of developmental biology.

This research was funded by a grant number FWES-2024-0028.

## О СЕЛЕКЦИОННЫХ ДОСТИЖЕНИЯХ У НЕКОТОРЫХ ПОЛЕВЫХ КУЛЬТУР В УСЛОВИЯХ ТАДЖИКИСТАНА

Партоев К.<sup>1</sup>, Сатторов Б. Н.<sup>2</sup>, Сафармади М.<sup>2</sup>, Сайдалиев Н.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Института ботаники, физиологии и генетики растений НАН Таджикистана*

<sup>2</sup>*Таджикский гос. пед. университет им. С. Айни*

<sup>3</sup>*Таджикский национальный университет*  
[pkurbonali@mail.ru](mailto:pkurbonali@mail.ru)

Сообщается о некоторых селекционных достижениях, достигших в последние годы учеными-селекционерами в Институте ботаники, физиологии и генетики растений НАН Таджикистана (ИБФГР НАНТ). Селекционеры в основу своих селекционных работ используют способы сочетания классических методов селекции и современной биотехнологии. Эти методы со стороны селекционерами практикуются уже течение более 10 последних лет. В результате таких научных работ, учеными ИБФГР НАНТ получены новые перспективные сортообразцы, таких культур, как картофеля, пшеницы, ячменя, овса, топинамбура, сорго, кукурузы, подсолнечника, цикория и других полевых культур. Полученные новые сортообразцы сельскохозяйственных культур являются устойчивым к неблагоприятным факторам среды, к изменению климата и к болезням. В настоящее время общая площадь под этими новыми сортами и сортообразцами этих культур, полученные учеными ИБФГР НАНТ в республике составляет более 10 тыс.га. При осуществлении селекционных работ ученые ИБФГР НАНТ плодотворно сотрудничают с учеными Таджикской академии сельскохозяйственных наук, Таджикском аграрном университете им. Ш. Шотемур и Таджикском государственном педагогическом университете им. С. Айни, а также с селекционерами из России, Беларуси и Узбекистана.

*Ключевые слова:* селекция, сорт, полевые культуры, пшеница, овёс, картофель, топинамбур, ячмень, сорго, цикорий и другие.

## ABOUT THE BREEDING ACHIEVEMENTS OF SOME FIELD CROPS IN TAJIKISTAN

Partoev K.<sup>1</sup>, Sattorov B. N.<sup>2</sup>, Safarmadi M.<sup>2</sup>, Saidaliev N.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Institution of Botany, plant physiology and genetics of NAS of Tajikistan*

<sup>2</sup>*Tajik St. Ped. University named after S. Aini*

<sup>3</sup>*Tajikistan National University*

*[pkurbonali@mail.ru](mailto:pkurbonali@mail.ru)*

Some breeding achievements have been reported in recent years by breeder scientists at the Institute of Botany, Physiology and Plant Genetics of the National Academy of Sciences of Tajikistan (IBFGR NANT). Breeders use methods of combining classical breeding methods and modern biotechnology as the basis of their breeding work. These methods have been practiced by breeders for more than 10 years. As a result of such scientific work, IBFGR NANT scientists have obtained new promising varieties of crops such as potatoes, wheat, barley, oats, sun artichoke, sorghum, corn, sunflower, chicory and other field crops. The resulting new varieties of agricultural crops are resistant to adverse environmental factors, climate change and diseases. Currently, the total area under these new varieties and cultivars of these crops obtained by scientists of IBFGR NANT in the republic is more than 10 thousand hectares. In carrying out breeding work, IBFGR NANT scientists fruitfully cooperate with scientists from the Tajik Academy of Agricultural Sciences, the Tajik Agrarian University named after Sh. Shotemur and the Tajik State Pedagogical University named after S. Aini, also with breeders from Russia, Belarus and Uzbekistan.

*Keywords:* breeding, variety, field crops, wheat, oats, potatoes, sun artichoke, barley, sorghum, chicory and others.



**ПОИСК ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬЮ ЦВЕТЕНИЯ И СОЗРЕВАНИЯ СОИ В УСЛОВИЯХ ЦЕНТРАЛЬНОЙ РОССИИ И ЗАПАДНОЙ СИБИРИ**

**Перфильев Р. Н.<sup>1</sup>, Потапов Д. А.<sup>2</sup>, Максименко К. В.<sup>2</sup>, Кирюхин С. В.<sup>3</sup>, Гуринович С. О.<sup>3</sup>, Панарина В. И.<sup>3</sup>, Полюдина Р. И.<sup>2</sup>, Салина Е. А.<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>*Институт цитологии и генетики СО РАН*

<sup>2</sup>*СФНЦА РАН, Новосибирск, Россия*

<sup>3</sup>*ФГБНУ ФНЦ ЗБК, Орёл, Россия*

<sup>4</sup>*КГЦ, ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия*

[pervf.1999@gmail.com](mailto:pervf.1999@gmail.com)

Вегетационный период — главный лимитирующий фактор, ограничивающий возможность возделывания сортов сои в пределах определённого диапазона широт. Хотя за последнее десятилетие был достигнут значительный успех в генетике вегетационного периода сои. Были определены белок кодирующие последовательности и функциональные нуклеотидные замены не только, для ключевых генов *E1-E4*, но также и для других локусов, ассоциированных с данным признаком, к примеру, *E11b*, *Tof4*, *Tof5*, *Tof8* и *Tof18*. Тем не менее, поиск новых локусов и генов, остаётся актуальной задачей для дальнейшего улучшения данной культуры. В нашей работе, с помощью полногеномного поиска ассоциаций мы обнаружили 32 SNPs ассоциированных с продолжительностью цветения и созревания сои в условиях Орловской и Новосибирской области. В результате приоритизации генов-кандидатов, мы выделили три, как наиболее интересные для дальнейшего изучения *GmSPL3* (*SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE 3*), *GmTOE1* (*TARGET OF EAT1*) и *GmGAI2a* (*GA-INSENSITIVE*). Первый и второй ген, контролируют цветение у арабидопсиса в зависимости от внешней температуры. Третий кодирует DELLA (*D-aspartic acid, E-glutamic acid, L-leucin, A-alanin*) белок — центральный компонент в ответе растения на гиббереллины. У данных генов-кандидатов, мы обнаружили гаплотипы, которые ассоциированы с продолжительностью цветения и созревания и, возможно, обуславливают адаптацию сои к северным широтам.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект РФФ No 21-76-30003).

SEARCH FOR GENES ASSOCIATED WITH THE DURATION OF FLOWERING AND MATURITY OF SOYBEAN IN THE CONDITIONS OF CENTRAL RUSSIA AND WESTERN SIBERIA

Pervfilev R. N.<sup>1</sup>, Potapov D. A.<sup>2</sup>, Maksimenko K. V.<sup>2</sup>, Kiryukhin S. V.<sup>3</sup>, Gurinovich S. O.<sup>3</sup>, Panarina V. I.<sup>3</sup>, Polyudina R. I.<sup>2</sup>, Salina E. A.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Cytology and Genetics of the SB RAS*

<sup>2</sup>*SFSC RAS, Novosibirsk, Russia*

<sup>3</sup>*FSBSI FSC LGC, Orel, Russia*

<sup>4</sup>*KGC, ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia*

[pervf.1999@gmail.com](mailto:pervf.1999@gmail.com)

The vegetation period is the primary limiting factor that restricts the cultivation of soybean varieties within certain latitude ranges. Although significant progress has been made in understanding the genetics of the soybean vegetation period over the past decade, there is still much to learn. Protein-coding sequences and functional nucleotide substitutions have been identified not only for the key genes *E1-E4* but also for other loci associated with this trait, such as *aEs1b*, *Tof4*, *Tof5*, *Tof8*, and *Tof18*. However, the search for new loci and genes remains a critical task for further improving this crop. In our study, using a genome-wide association study (GWAS), we identified 32 SNPs associated with the duration of flowering and maturation of soybeans in the Orel and Novosibirsk regions. Through candidate gene prioritization, we identified three genes as particularly promising for further research: *GmSPL3* (SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE 3), *GmTOE1* (TARGET OF EAT1), and *GmGAI2a* (GA-INSENSITIVE). The first two genes regulate flowering in *Arabidopsis* in response to external temperature, while the third encodes DELLA (D-aspartic acid, E-glutamic acid, L-leucine, A-alanine) protein, a central component in the plant's response gibberellins. In these candidate genes, we discovered haplotypes associated with the duration of flowering and maturation, which may play a role in the adaptation of soybeans to northern latitudes.

This research was funded the Russian Science Foundation (RSF project No. 21-76-30003).

**ВЛИЯНИЕ АМИНОКИСЛОТ НА СОДЕРЖАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР *HYSSOPUS OFFICINALIS* L.****Попова Е. А. , Пунгин А. В.**

ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», Калининград.  
[elena\\_popova97@mail.ru](mailto:elena_popova97@mail.ru)

*Hyssopus officinalis* L. – ценное лекарственное растение, содержащее биологически активные вещества с фармакологической активностью. Каллусы данного вида растения являются перспективными биотехнологическими культурами для получения вторичных метаболитов. Поэтому целью данной работы являлось изучение влияния различных концентраций аминокислот фенилаланина и тирозина на содержание биологически активных веществ в каллусных культурах *H. officinalis*.

Объектом исследования являлись каллусные культуры *H. officinalis*, выращенные на трёх модификациях среды Мурасиге – Скуга: MS-2 (2 мл/л KIN и 3 мл/л NAA), MS-5 (0,8 мл/л BAP, 1,5 мл/л IAA и 0,5 мл/л IBA) и MS-6 (0,2 мл/л BAP и 1 мл/л 2,4-D) с добавлением фенилаланина и тирозина в концентрации 0, 1, 10, 100, 500 мкМ в течении 30 дней.

При внесении в питательные среды 10 мкМ фенилаланина установлено высокое содержание фенольных соединений в экстрактах каллусных культур, выращенных на средах MS-2, MS-5 и MS-6 – 15,9±2,6, 11,9±1,2 и 6,3±0,9 мг – экв. галловой кислоты/г СМ соответственно. Внесение в питательные среды 100 мкМ тирозина приводило повышению содержания фенольных соединений в каллусных культурах, выращенных на средах MS-2, MS-5 и MS-6 – 17,0±3,0, 13,5±1,2 и 13,5±1,2 мг – экв. галловой кислоты/г СМ соответственно. Общее содержание гидроксикоричных кислот увеличивалось при добавлении в питательные среды фенилаланина в концентрации 10 мкМ на средах MS-2, MS-5 и MS-6, и достигло 15,9±2,6, 4,4±1,1 и 7,6±0,8 мг – экв. розмариновой кислоты/г СМ соответственно. Добавление в питательные среды 100 мкМ тирозина также приводило к повышению гидроксикоричных кислот в каллусных культурах, выращенных на средах MS-2 и MS-5 – 17,0±3,0 и 9,3±1,2 мг – экв. розмариновой кислоты/г соответственно.

Антиоксидантная активность экстракта каллусной культуры, выращенной на среде MS-2, увеличивалась при добавлении тирозина в концентрации 500 мкМ: по методу DPPH (54,7±9,0 мг – экв. аскорбиновой кислоты/г СМ), по методу FRAP фенилаланина в концентрации 100 (95,0±25,5 мг – экв. аскорбиновой кислоты/г СМ) и 10 мкМ (55,3±8,7 мг – экв. аскорбиновой кислоты/г СМ) по методу ABTS. Для экстракта каллусной культуры, выращенной на среде MS-5, было установлено повышение антиоксидантной активности при добавлении тирозина в концентрации 10 мкМ, что составило 43,3±1,9 мг – экв. аскорбиновой кислоты/г СМ и 55,7±12,0 мг – экв. аскорбиновой кислоты/г СМ, согласно методам DPPH и ABTS соответственно, а также при добавлении тирозина в концентрации 100 мкМ (133,9±27,7 мг – экв. аскорбиновой кислоты/г СМ) по методу FRAP. В то же время по методам FRAP и ABTS антиоксидантная активность экстракта каллусной культуры MS-5 увеличивалась при внесении фенилаланина в концентрации 10 мкМ и составила 122,6±99,0 и 59,6±9,1 мг – экв. аскорбиновой кислоты/г СМ соответственно. Для каллусной культуры, выращенной на среде MS-6, антиоксидантная активность по методам DPPH (33,0±5,2 мг – экв. аскорбиновой кислоты/г СМ) и FRAP (66,3±8,0 мг – экв. аскорбиновой кислоты/г СМ) была повышена при внесении 100 мкМ фенилаланина. При добавлении тирозина в концентрации 1 мкМ (38,6±3,3 мг – экв. аскорбиновой кислоты/г СМ) и 10 мкМ (40,6±4,5 мг – экв. аскорбиновой кислоты/г СМ) также была зафиксирована высокая антиоксидантная активность по методу DPPH.

EFFECT OF AMINO ACIDS ON THE CONTENT OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES OF CALLUS CULTURES OF *HYSSOPUS OFFICINALIS* L.

Popova E. A., Pungin A. V.

*Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad*  
[elena\\_popova97@mail.ru](mailto:elena_popova97@mail.ru)

*Hyssopus officinalis* L. is a valuable medicinal plant containing biologically active substances with pharmacological activity. The calluses of this plant species are promising biotechnological crops for the production of secondary metabolites. Therefore, the purpose of this work was to study the effect of different concentrations of the amino acids phenylalanine and tyrosine on the content of biologically active substances in *H. officinalis* callus cultures.

The object of the study was *H. officinalis* callus cultures grown on three modifications of the Murashige–Skuga medium: MS-2 (2 ml/l KIN and 3 ml/l NAA), MS-5 (0.8 ml/l BAP, 1.5 ml/l IAA and 0.5 ml/l IBA) and MS-6 (0.2 ml/l of BAP and 1 ml/l of 2,4-D) with the addition of phenylalanine and tyrosine in concentrations of 0, 1, 10, 100, 500  $\mu\text{M}$  for 30 days.

When 10  $\mu\text{M}$  of phenylalanine were introduced into nutrient media, a high content of phenolic compounds was found in extracts of callus cultures grown on MS-2, MS-5 and MS media-6 – 15,9 $\pm$ 2,6, 11,9 $\pm$ 1,2 and 6,3 $\pm$ 0,9 mg GAE g<sup>-1</sup> DW, respectively. The introduction of 100  $\mu\text{M}$  of tyrosine into nutrient media led to an increase in the content of phenolic compounds in callus cultures grown on MS-2, MS-5 and MS media-6 – 17,0 $\pm$ 3,0, 13,5 $\pm$ 1,2 and 13,5 $\pm$ 1,2 mg GAE g<sup>-1</sup> DW, respectively. The total content of hydroxycinnamic acids increased when phenylalanine was added to nutrient media at a concentration of 10  $\mu\text{M}$  on MS-2, MS-5 and MS-6 media, and reached 15,9 $\pm$ 2,6, 4,4 $\pm$ 1,1 and 7,6 $\pm$ 0,8 mg RA g<sup>-1</sup> DW, respectively. The addition of 100  $\mu\text{M}$  of tyrosine to nutrient media also led to an increase in hydroxycinnamic acids in callus cultures grown on MS-2 and MS-5 media – 17,0 $\pm$ 3,0 and 9,3 $\pm$ 1,2 mg RA g<sup>-1</sup> DW, respectively.

The antioxidant activity of the extract of the callus culture grown on MS-2 medium increased with the addition of tyrosine at a concentration of 500  $\mu\text{M}$ : according to the DPPH method (54,7 $\pm$ 9,0 mg AscAc g<sup>-1</sup> DW), according to the FRAP method of phenylalanine at a concentration of 100 (95,0 $\pm$ 25,5 mg AscAc g<sup>-1</sup> DW) and 10  $\mu\text{M}$  (55,3 $\pm$ 8,7 mg AscAc g<sup>-1</sup> DW) according to the ABTS method. For an extract of a callus culture grown on MS-5 medium, an increase in antioxidant activity was found with the addition of tyrosine at a concentration of 10  $\mu\text{M}$ , which amounted to 43,3 $\pm$ 1,9 mg AscAc g<sup>-1</sup> DW and 55,7 $\pm$ 12,0 mg AscAc g<sup>-1</sup> DW, according to the DPPH and ABTS methods, respectively, as well as with the addition of tyrosine at a concentration of 100  $\mu\text{M}$  (133,9 $\pm$ 27,7 mg AscAc g<sup>-1</sup> DW) according to the FRAP method. At the same time, according to the FRAP and ABTS methods, the antioxidant activity of the MS-5 callus culture extract increased with the addition of phenylalanine at concentration of 10  $\mu\text{M}$  and amounted to 122,6 $\pm$ 99,0 and 59,6 $\pm$ 9,1 mg AscAc g<sup>-1</sup> DW, respectively. For a callus culture grown on MS-6 medium, the antioxidant activity according to DPPH methods (33,0 $\pm$ 5,2 mg AscAc g<sup>-1</sup> DW) and FRAP (66,3 $\pm$ 8,0 mg AscAc g<sup>-1</sup> DW) was increased with the addition of 100  $\mu\text{M}$  of phenylalanine. When tyrosine was added at a concentration of 1  $\mu\text{M}$  (38,6 $\pm$ 3,3 mg AscAc g<sup>-1</sup> DW) and 10  $\mu\text{M}$  (40,6 $\pm$ 4,5 mg AscAc g<sup>-1</sup> DW) also showed high antioxidant activity by the DPPH method.

## ПОИСК ФИТОГОРМОНАЛЬНОГО ОТВЕТА В ТРАНСКРИПТОМЕ ЯЧМЕНЯ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ РАЗЛИЧНЫМИ ТИПАМИ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Празян А. А. , Подлущий М. С. , Бондаренко Е. В. , Волкова П. Ю.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение «ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ РАДИОЛОГИИ И АГРОЭКОЛОГИИ НАЦИОНАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ЦЕНТРА «КУРЧАТОВСКИЙ ИНСТИТУТ»*  
[prazyana@yahoo.com](mailto:prazyana@yahoo.com)

Повышение урожайности сельскохозяйственных культур является критически важным для современного общества, где обеспечение продовольственной безопасности стоит на первом месте. Увеличение числа экстремальных климатических условий увеличивает нагрузки на сельскохозяйственные растения, что требует разработку адаптационных стратегий. Ионизирующее излучение (ИИ) помогает понять механизмы, с помощью которых растения адаптируются к абиотическим стрессорам, активируя антиоксидантную защиту и репарационные механизмы ДНК. Ячмень (*Hordeum vulgare* L.) — важная сельскохозяйственная культура, способная стать объектом для повышения урожайности и устойчивости. В нашем исследовании мы применили гамма-, электронное и протонное излучение в сочетании с транскриптомным анализом для выявления общих ответных транскриптов и оценки их роли в реакциях на стресс.

Семена озимого ячменя сорта Фокс 1 были посеяны в грунт в горшках и помещены в контролируемые условия для проращивания. На седьмой день после посева сеянцы подвергались облучению, а листья были собраны через 24 часа после воздействия. Растения из одного горшка объединялись в одну пробу. Проростки облучались  $\gamma$ -излучением, электронами и протонами в дозе 15 Гр с использованием источника  $\gamma$ -излучения "Агат" (изотоп  $^{60}\text{Co}$ ), линейного ускорителя электронов NOVAC11 и комплекса протонной терапии "Прометей". Подготовка библиотек и секвенирование осуществлялись компанией "Евроген" (Москва, Россия) на системе Illumina NovaSeq 6000 с параметрами 2 × 150 пар оснований. Обработка полученных данных включала контроль качества, фильтрацию прочтений низкого качества и их выравнивание с использованием эталонного транскриптома ячменя (BaRTv2.18). Для анализа дифференциальной экспрессии генов использовался инструмент DESeq2 с целью выявления генов, экспрессия которых значительно отличалась между контрольными и облученными образцами. Аннотированные данные анализировались с применением баз данных UniProt и NCBI для получения дополнительной информации о белках и их функциях. Для более глубокого понимания биологических процессов, затронутых ионизирующим излучением, был выполнен функциональный анализ обогащения с использованием базы данных Gene Ontology. Дифференциальный анализ экспрессии генов в растениях после воздействия гамма-, протонного и электронного излучения выявил 553 уникальных гена с увеличенной экспрессией и 124 гена с пониженной экспрессией. В результате сравнения транскрипционных ответов на три вида облучения было обнаружено 47 общих дифференциально экспрессированных генов (ДЭГ).

Ионизирующее излучение воздействует на клетки растений, приводя к превращению нейтральных атомов и молекул в их активные формы. Этот механизм приводит к различным биологическим эффектам, включая модификацию сигнационных каскадов в растениях и индукцию окислительного стресса, что, в свою очередь, увеличивает продукцию активных форм кислорода (АФК). Существует свидетельство о том, что баланс фитогормонов изменяется под воздействием радиации. В наших данных особое внимание уделено двум генам с повышенной экспрессией, вовлеченным в биосинтез и сигнализацию ауксина: *AOA816YN81* (реакция на протонное и электронное излучение) и *AOA816XJC3* (ответ на электронное и гамма-излучение). Данные исследований подчеркивают важность ауксинов в регуляции стрессовых реакций у растений. Колебания и дифференциальное распределение ауксина в тканях контролируют разнообразные процессы развития, адаптируя рост и морфологию растений к изменяющимся условиям окружающей среды. Различные экологические и эндогенные сигналы могут интегрироваться в измененное распределение ауксина, влияя на локальный биосинтез и межклеточный транспорт ауксина. В ответ на ионизирующее излучение динамика ауксина ассоциирована с явлением радиационного гормезиса, которое представляет собой стимуляцию роста после воздействия низкой дозы радиации. Кроме того, ауксиновая сигнализация играет значительную роль в механизмах восстановления ДНК и остановки клеточного цикла. Также мы обнаружили экспрессию бета-галактозидазы (*AOA816X415*), показывающую важную взаимосвязь с фитогормонами. Недавние исследования подчеркивают регуляцию синтеза целлюлозы и расположения микротрубочек в первичной клеточной стенке под воздействием фитогормонов в условиях стресса.

## INVESTIGATION OF PHYTOHORMONAL RESPONSES IN THE BARLEY TRANSCRIPTOME FOLLOWING IRRADIATION WITH VARIOUS TYPES OF IONIZING RADIATION

Prazyan A. A. , Podlutskii M. S. , Bondarenko E. , Volkova P.

*Russian Institute of Radiology and Agroecology of National Research Centre «Kurchatov Institute»  
[prazyana@yahoo.com](mailto:prazyana@yahoo.com)*

Increasing agricultural crop yields is critically important for modern society, where ensuring food security is a top priority. The increasing frequency of extreme climatic conditions places additional stress on agricultural plants, necessitating the development of adaptive strategies. Ionizing radiation (IR) aids in understanding the mechanisms by which plants adapt to abiotic stressors by activating antioxidant defenses and DNA repair mechanisms. Barley (*Hordeum vulgare* L.) is an important agricultural crop that has the potential to be a target for yield improvement and resilience enhancement. In our study, we applied gamma, electron, and proton radiation in combination with transcriptomic analysis to identify common responsive transcripts and assess their roles in stress reactions.

Seeds of winter barley variety Fox 1 were sown in soil in pots and placed under controlled conditions for germination. On the seventh day after sowing, the seedlings were irradiated, and leaves were collected 24 hours post-exposure. Plants from a single pot were combined into a single sample. The seedlings were irradiated with  $\gamma$ -radiation, electrons, and protons at a dose of 15 Gy using the  $\gamma$ -radiation source "Agat" (isotope  $^{60}\text{Co}$ ), the linear electron accelerator NOVAC11, and the "Prometheus" proton therapy complex.

Library preparation and sequencing were performed by EvroGen (Moscow, Russia) on the Illumina NovaSeq 6000 system with  $2 \times 150$  base pair parameters. The data processing included quality control, filtering out low-quality reads, and aligning them with the reference transcriptome of barley (BaRTv2.18). The DESeq2 tool was utilized for differential gene expression analysis to identify genes whose expression significantly differed between control and irradiated samples. Annotated data were analyzed using the UniProt and NCBI databases to obtain additional information about proteins and their functions. To gain a deeper understanding of the biological processes affected by ionizing radiation, functional enrichment analysis was conducted using the Gene Ontology database.

Differential gene expression analysis in plants exposed to gamma, proton, and electron radiation revealed 553 unique genes with increased expression and 124 genes with decreased expression. A comparative analysis of transcriptional responses to the three types of irradiation identified 47 common differentially expressed genes (DEGs). Ionizing radiation affects plant cells, leading to the conversion of neutral atoms and molecules into their active forms. This mechanism results in various biological effects, including the modification of signaling cascades in plants and the induction of oxidative stress, which in turn increases the production of reactive oxygen species (ROS). There is evidence that the balance of phytohormones is altered in response to radiation. Our data focus on two genes with increased expression involved in auxin biosynthesis and signaling: *AOA816YN81* (responsive to proton and electron radiation) and *AOA816XJC3* (responsive to electron and gamma radiation). The findings highlight the significance of auxins in regulating stress responses in plants. Fluctuations and differential distribution of auxins in tissues control a variety of developmental processes, adapting plant growth and morphology to changing environmental conditions. Various ecological and endogenous signals can be integrated into changes in auxin distribution, influencing local biosynthesis and intercellular transport of auxins. In response to ionizing radiation, the dynamics of auxin are associated with the phenomenon of radiation hormesis, which refers to the stimulation of growth following exposure to low doses of radiation. Additionally, auxin signaling plays a significant role in the mechanisms of DNA repair and cell cycle arrest. We also observed the expression of beta-galactosidase (*AOA816X415*), indicating an important relationship with phytohormones. Recent studies emphasize the regulation of cellulose synthesis and the arrangement of microtubules in the primary cell wall under the influence of phytohormones during stress conditions.

**ИССЛЕДОВАНИЯ ВСЕРОССИЙСКОГО НИИ ВИНОГРАДАРСТВА И ВИНОДЕЛИЯ ИМ.  
Я. И. ПОТАПЕНКО ПО СОВЕРШЕНСТВОВАНИЮ МЕТОДОВ СОДЕРЖАНИЯ  
ГЕНОФОНДА ВИНОГРАДА В КОЛЛЕКЦИИ *IN VITRO***

**Пузырнова В. Г.<sup>1</sup>, Дорошенко Н. П.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Новочеркасский инженерно-мелиоративный институт имени А.К. Кортунова ФГБОУ ВО  
Донской ГАУ

<sup>2</sup> Всероссийский научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия имени Я.И.  
Потапенко – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения  
«Федеральный Ростовский аграрный научный центр»  
[valentina.puzirnova@yandex.ru](mailto:valentina.puzirnova@yandex.ru)

Одним из ключевых моментов создания коллекции *in vitro* является разработка приёмов введения растительного материала в стерильную культуру. Чтобы достигнуть большего эффекта при длительном хранении фонда, необходимо освободить растительный материал от патогенов и быстро размножить его. Исследования проводились в стационарных условиях лаборатории биотехнологии ВНИИВиВ–филиал ФГБНУ ФРАНЦ по общепринятым в биотехнологии методикам. В коллекции *in vitro* сохраняли оздоровленные микрорастения, которые по одному высаживали в пробирку, то есть коллекция была «живой» или, как ещё называют такие коллекции, «зеленой».

За основу формирования банка оздоровленных растений взят способ оздоровления растений при помощи культуры апикальных меристем при относительном размере эксплантов 0,1–0,2 мм, в сочетании с химиотерапией.

1. Доказана необходимость применения химиотерапии на этапе ввода меристем в культуру *in vitro* для оздоровления от вирусной инфекции – применение препарата Рибавирин (5,0 мг/л) и совместное применение препарата Рибавирин с салициловой кислотой (5,0 мг/л + 0,14 мг/л).

2. Обосновано для оздоровления от микозов добавление в состав питательной среды антибиотика Цефотаксим в количестве 50,0–450,0 мг/л в зависимости от степени инфицирования растений.

3. Улучшению регенерационной способности меристем способствует введение в состав питательной среды препарата Мелафен, под действием которого меристемы быстрее увеличиваются в размерах, приступают к линейному росту и образованию розетки листьев, ускоряется переход к следующему этапу. У изучаемых сортов отмечено улучшение ростовых параметров меристем при концентрации препарата в разведении  $10^{-7}$  снижение при концентрациях  $10^{-7.5}$  и  $10^{-8}$ . Доказано повышение коэффициента размножения (число побегов, образовавшихся на одну выделенную меристему) в 2–2,5 раза

4. Выявлены особенности регенерации микрочеренков в зависимости от места расположения на побег. Доказано, что сохранность в коллекции и продолжительность беспересадочного хранения, увеличивается до 10,0 и более месяцев у растений, полученных из верхних частей побегов, что в 1,7 раза превышает эти показатели у растений, полученных из микрочеренков средней и нижней части побегов. На основании этих данных разработан новый способ хранения коллекции *in vitro* (патент RU No2764104 C1), обеспечивающий беспересадочное хранение растений в коллекции в течение 10–12 месяцев.

5. Исследована регенерация микрочеренков в зависимости от размеров и ориентации в простран. Подтверждено, что лучшим размером микрочеренков для массового тиражирования мериклонов и закладки растений в коллекцию на хранение является 0,7–0,8 см и наклонная экспозиция экспланта. В этом варианте растения имеют более развитую ризогенную зону, большую длину побегов и облиственность.

**Ключевые слова:** виноград, коллекция *in vitro*, Рибавирин, салициловая кислота, Цефотаксим, Мелафен, место расположения, размер, ориентация в пространстве.

RESEARCH OF THE ALL-RUSSIAN RESEARCH INSTITUTE OF VITICULTURE AND WINEMAKING NAMED AFTER Y.I. POTAPENKO ON IMPROVING METHODS OF MAINTAINING THE GENE POOL OF GRAPEVINE IN THE IN VITRO COLLECTION

Puzirnova V. <sup>1</sup>, Doroshenko N. P. <sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Novocherkassk Engineering and Land Reclamation Institute named after A.K. Kortunov  
FGBOU VO Donskoy SAU*

<sup>2</sup> *All-Russian Research Institute of Viticulture and Winemaking named after Ya.I. Potapenko -  
branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Rostov Agrarian Scientific Center"  
[valentina.puzirnova@yandex.ru](mailto:valentina.puzirnova@yandex.ru)*

The key point of creating an in vitro collection is the development of techniques for introducing plant material into a sterile culture. To achieve a greater effect with long-term storage of the collection, it is necessary to free the plant material from pathogens and multiply it quickly.

The research was carried out in stationary conditions of the laboratory of biotechnology of All-Russian Research Ya.I. Potapenko Institute for Viticulture and Winemaking according to generally accepted methods in biotechnology. In the in vitro collection, healthy micro-plants were preserved, which were planted one at a time in a test tube, that is, the collection was "alive" or, as such collections are also called, "green".

The formation of a bank of healthy plants is based on a method of improving plants using a culture of apical meristems with explant size of 0.1–0.2 mm, in combination with chemotherapy.

1. The need for chemotherapy at the stage of introducing meristems into culture in vitro for recovery from viral infection has been proven – the use of Ribavirin (5.0 mg/l) and the combined use of Ribavirin with salicylic acid (5.0 mg/l +0.14 mg/l).

2. The addition of the antibiotic Cefotaxime in the amount of 50.0–450.0 mg/l, depending on the degree of infection of plants, to the nutrient medium is justified for recovery from mycoses.

3. The introduction of Melafen into the nutrient medium contributes to the improvement of the regenerative ability of meristems, under the action of which the meristems increase in size faster, begin linear growth and the formation of a rosette of leaves, the transition to the next stage is accelerated. The studied varieties showed an improvement in the growth parameters of the meristems at a concentration of the drug in a dilution of  $10^{-7}$  and a decrease at concentrations of  $10^{-7.5}$  and  $10^{-8}$ . An increase in the reproduction coefficient (the number of shoots formed per isolated meristem) by 2-2.5 times has been proven.

4. The features of regeneration of micro cuttings depending on the location on the shoot are revealed. It is proved that the safety in the collection and the duration of non-stop storage increases to 10.0 months or more in plants obtained from the upper parts of the shoots, which is 1.7 times higher than these indicators in plants obtained from micro cuttings of the middle and lower parts of the shoots. Based on these data, a new method for storing the collection in vitro (patent RU No.2764104 C1) has been developed, providing non-stop storage of plants in the collection for 10-12 months.

5. The regeneration of micro cuttings depending on the size and orientation in space is investigated. It has been confirmed that the best size of micro gears for mass replication of mericlones and placing plants in the collection for storage is 0.7–0.8 cm and an inclined exposure of the explant. In this variant, the plants have a more developed rhizogenic zone, a longer length of shoots and foliage.

**Keywords:** grapevine, in vitro collection, Ribavirin, salicylic acid, Cefotaxim, Melafen, location, size, orientation in space.



## ФАКТОРЫ И ПАРАМЕТРЫ ДОЛГОСРОЧНОГО ХРАНЕНИЯ БИОРЕСУРСНОЙ КОЛЛЕКЦИИ ВИНОГРАДА

Дорошенко Н. П.<sup>1</sup>, Пузырнова В. Г.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Всероссийский научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия имени Я.И. Потапенко – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный Ростовский аграрный научный центр»

<sup>2</sup> Новочеркасский инженерно-мелиоративный институт имени А.К. Кортунова ФГБОУ ВО Донской ГАУ  
[valentina.puzirnova@yandex.ru](mailto:valentina.puzirnova@yandex.ru)

Исследования проводились в стационарных условиях лаборатории биотехнологии ВНИИВиВ–филиал ФГБНУ ФРАНЦ по общепринятым в биотехнологии методикам. Главный методический подход при проведении исследований - достижение состояния замедленного роста при сохранении жизнеспособности тканей экспланта. Коллекция генофонда винограда ВНИИВиВ им. Я.И. Потапенко *in vitro* развивается путем пополнения новыми сортами и совершенствования условий длительного хранения. Замедления интенсивности ростовых процессов добивались путем изменения условий хранения и модификации питательных сред. На ростовые процессы оказывает влияние плотность питательной среды. В вариантах с повышенным содержанием агара до 8,0–10,0 мг/л происходит замедление ростовых процессов при высокой приживаемости и жизнеспособности растений. Для минимизации роста растений исследованы параметры применения осмотиков: сахароза, сорбит, фруктоза; регулятора роста Мелафен, антибиотика Гентамицин, ингибитора Флорон. Получены следующие результаты.

Исследована кинетика ростовых процессов растений при введении сахарозы в состав питательной среды в диапазоне от 0 до 60 г/л. Торможение ростовых процессов наблюдалось при концентрациях 5,0 и 60–70 г/л. Доказано, что культивирование при повышенных концентрациях сахарозы в условиях пониженной температуры способствует вызреванию растений и продлению сроков беспересадочного культивирования до 2–3 лет (патент № 2797364).

Под действием сорбита более интенсивный ризогенез и рост побегов происходит при концентрациях 5,0–10,0 г/л, а торможение ростовых процессов при концентрациях 20–30 г/л, что дает возможность использовать сорбит в таком количестве для создания «зеленой медленнорастущей» коллекции винограда *in vitro*. Следует отметить при этом отличное состояние растений. При концентраций фруктозы 20,0 г/л выявлена самая развитая ризогенная зона, хорошая сохранность (60 %) и статистически значимое торможение роста побегов. В связи с тем, что использование в качестве источника углерода фруктозы уменьшает структурные и количественные изменения хромосом и улучшает развитие раст регенерантов, рекомендуется вводить в состав питательной среды фруктозу при адаптации растений к нестерильным условиям.

Мелафен способствует продолжительному беспересадочному культивированию в течение 260 дней. Возможно беспересадочное культивирование растений в течение 450 дней и отдельных растений: 540 и 630 дней.

Гентамицин способствует улучшению приживаемости растений в 2–3 раза. При этом проявляется токсическое влияние антибиотика на образование и рост корней, рост побегов, образование и рост листьев. Выяв ингибирующее действие антибиотика в концентрациях 0,05–0,03 мл/л. Менее всего страдали от гентамицина растения при концентрации 0,005 мл/л, что способствовало увеличению беспересадочного хранения их в коллекции до 10–12 и более месяцев (патент No2538859).

Определена лучшая концентрация ингибитора Флорон – 0,001%: за 190 суток культивирования растений сорта Махроватчик сохранилось 76,7% растений, у которых произошло замедление ростовых процессов, а качественное состояние растений обеспечит дальнейшее депонирование растений.

Прогнозируемый экономический эффект складывается из снижения расходов на оплату труда и расходных материалов за счет удлинения периода между пересадками с 6 месяцев до 12 вследствие снижения ростовых процессов. Предлагаемые мероприятия позволят сделать содержание растений в коллекции экономичнее на 29,4 %. Кроме того, коллекция *in vitro* представляет собой «биоресурсную коллекцию» – особо ценную часть генетического разнообразия для сохранения, консервации и воспроизводства, всестороннего изучения и использования. На основании проведенных исследований разработана стратегия (схема) и методология создания банка асептических растений.

## FACTORS AND PARAMETERS OF LONG-TERM STORAGE OF BIORESOURCE GRAPEVINE COLLECTION

Doroshenko N. P.<sup>1</sup>, Puzirnova V. <sup>2</sup>

<sup>1</sup>All-Russian Research Institute of Viticulture and Winemaking named after Ya.I. Potapenko - branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Rostov Agrarian Scientific Center"

<sup>2</sup>Novocherkassk Engineering and Land Reclamation Institute named after A.K. Kortunov FGBOU VO Donskoy SAU

[valentina.puzirnova@yandex.ru](mailto:valentina.puzirnova@yandex.ru)

The research was carried out in stationary conditions of the laboratory of biotechnology All-Russian Research Ya.I. Potapenko Institute for Viticulture and Winemaking according to generally accepted methods in biotechnology. The main methodological approach in conducting research is to achieve a state of slow growth while maintaining the viability of explant tissues. The collection of the gene pool of the grapevine in All-Russian Research Ya.I. Potapenko Institute for Viticulture and Winemaking in vitro develops by replenishing new varieties and improving long-term storage conditions. Slowing down the intensity of growth processes was achieved by changing storage conditions and modifying nutrient media. The possibility of storing the collection of gene pool of grapevine in vitro at a reduced positive temperature of +1 – +8°C is substantiated, which helps to minimize growth, maturation of plants and prolongation of non-stop storage.

Growth processes are influenced by the density of the nutrient medium. In variants with an increased agar content up to 8.0–10.0 mg/l, growth processes slow down with high plant survival and viability.

To minimize plant growth, the parameters of osmotic use were studied: sucrose, sorbitol, fructose; growth regulator Melafen, antibiotic Gentamicin, inhibitor Floron. The following results were obtained.

The kinetics of plant growth processes during the introduction of sucrose into the nutrient medium in the range from 0 to 60 g/l has been studied. Inhibition of growth processes was observed at concentrations of 5.0 and 60-70 g/l. It has been proven that cultivation at increased concentrations of sucrose in conditions of low temperature contributes to the maturation of plants and the extension of the duration of non-planting cultivation up to 2-3 years.

Under the action of sorbitol, more intensive rhizogenesis and shoot growth occurs at concentrations of 5.0–10.0 g / l, and inhibition of growth processes at concentrations of 20-30 g / l, which makes it possible to use sorbitol in such quantities to create a "green slow-growing" grapevine collection in vitro. It should be noted that the plants are in excellent condition.

At fructose concentrations of 20.0 g/l, the most developed rhizogenic zone was revealed, good preservation (60%) and statistically significant inhibition of shoot growth. Due to the fact that the use of fructose as a carbon source reduces structural and quantitative changes in chromosomes and improves the development of regenerating plants, it is recommended to introduce fructose into the nutrient medium when plants adapt to non-sterile conditions Melafen promotes continuous non-stop cultivation for 260 days. It is possible to cultivate plants continuously for 450 days and individual plants: 540 and 630 days.

Gentamicin helps to improve plant survival by 2-3 times. At the same time, the toxic effect of the antibiotic on root formation and growth, shoot growth, leaf formation and growth is noted. The inhibitory effect of the antibiotic was revealed in concentrations of 0.05–0.03 ml/l. Plants at a concentration of 0.005 ml/l suffered the least from gentamicin, which contributed to an increase in their non-stop storage in the collection up to 10-12 months or more.

The best concentration of the Floron inhibitor was determined – 0.001%: for 190 days of cultivation of plants Mahrovatchik variety, 76.7% of plants with a slowdown in growth processes were preserved, and the qualitative condition of the plants will ensure further deposition of plants.

The projected economic effect consists of a reduction in labor costs and consumables due to the lengthening of the period between transplants from 6 months to 12 due to a decrease in growth processes. The proposed measures will make the maintenance of plants in the collection more economical by 29.4%.

In addition, the in vitro collection is a "bioresource collection" – a particularly valuable part of genetic diversity for conservation, conservation and reproduction, comprehensive study and use.

Based on the conducted research, a strategy and methodology for creating a bank of aseptic plants have been developed.

## ОСОБЕННОСТИ РИЗОГЕНЕЗА ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *AMELANCHIER* MEDIK. В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*.

Раева-Богословская Е. Н.

ФГБУН Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина Российской академии наук  
[katyaraevab@gmail.com](mailto:katyaraevab@gmail.com)

На сегодняшний день в различных отраслях растениеводства возрастает интерес к малораспространенным культурам. Это обусловлено недостатком в ассортименте растений, сочетающих хозяйственно-ценные качества с устойчивостью к абиотическим факторам. Ирга является неприхотливым, но редко используемым ягодным декоративным кустарником. Для получения большого количества сортового посадочного материала ирги используют метод клонального микроразмножения. На ризогенез эксплантов может влиять как состав питательной среды на этапе укоренения, так и используемые регуляторы роста на этапе размножения. Подбор оптимального состава питательной среды на всех этапах культивирования способствует повышению экономической эффективности технологии.

Цель работы – выявление особенностей ризогенеза сортов ирги на этапе укоренения и анатомического строения корней ирги *in vitro*.

В качестве объектов исследования использованы сорта *A. alnifolia* ('Obelisk'; 'Thiessan') и сорта *A. canadensis* ('Prince William'; 'Globe').

Установлено влияние генотипа и цитокининов, применяемых на этапе собственно микроразмножения, на укореняемость сортов ирги. Сорта *A. canadensis* характеризовались большим процентом укоренившихся микропобегов, по сравнению с сортами *A. alnifolia* (90% и 49%, соответственно). Использование при клональном микроразмножении 1,0 мг/л мета-тополина или его комбинации с 0,5 мг/л 6-бензиламинопурина в составе питательной среды способствует последующему увеличению числа укоренившихся микропобегов на этапе ризогенеза.

Определено влияние активированного угля в концентрациях 0,1 г/л и 0,2 г/л на ризогенез сортов ирги *in vitro*. Укореняемость микропобегов на питательной среде с 0,2 г/л активированного угля составила 78%. Процент укоренившихся микропобегов на питательной среде с добавлением 0,1 мг/л активированного угля существенно не отличался от контрольного варианта без активированного угля (90%).

Выявлено, что корни эксплантов ирги характеризуются первичным строением. Основной объем площади поперечного среза корня занимают паренхимные клетки первичной коры. Стела корня представлена перициклом и слабо дифференцированными протоксилемой и протофлоэмой. Применение в составе среды активированного угля способствует снижению образования каллуса у основания экспланта на этапе ризогенеза и уменьшению толщины первичной коры у корней ирги в 2 раза. Это может благоприятно влиять на последующую адаптацию регенерантов к условиям *in vitro*, за счет упрощения транспорта воды по апопласту от экзодермы к стеле корня.

Таким образом, для повышения экономической эффективности клонального микроразмножения сортов ирги *in vitro* рекомендуется в состав питательной среды добавлять на этапе собственно микроразмножения мета-тополин в концентрации 1,0 мг/л, а для ризогенеза применять питательную среду, содержащую 1,0 мг/л индолилмасляной кислоты с 0,1 г/л активированного угля.

Работа выполнена в рамках ГЗ ГБС РАН (№122042700002-6).

**Ключевые слова:** ирга, ризогенез, активированный уголь, мета-тополин

RHIZOGENESIS FEATURES OF AMELANCHIER MEDIK. REPRESENTATIVES UNDER *IN VITRO* CONDITIONS.

Raeva-Bogoslovskaya E. N.

Tsitsin Main Botanical Garden of Russian Academy of Sciences  
[katyaraevab@gmail.com](mailto:katyaraevab@gmail.com)

Currently, interest in rare crops is increasing across various sectors of crop production. This is due to the scarcity of plants that combine economically valuable traits with resistance to abiotic factors. *Amelanchier* is a hardy but underutilized berry and ornamental shrub. To produce a large quantity of varietal planting material *Amelanchier* is propagated through clonal micropropagation. The rhizogenesis of explants can be influenced by both the composition of the nutrient medium during the rooting stage and the growth regulators used during the multiplication stage. Optimizing the nutrient medium composition at all stages of cultivation enhances the economic efficiency of the technology. The aim of this study is to identify the characteristics of rhizogenesis in *Amelanchier* varieties during the rooting stage and to identify the anatomical structure of *Amelanchier* roots under *in vitro* conditions.

The varieties of *A. alnifolia* ('Obelisk,' 'Thiessan') and *A. canadensis* ('Prince William', 'Globe') were used as research subjects. The influence of genotype and the cytokinins used during the micropropagation stage on the rootability of *Amelanchier* varieties was established. *A. canadensis* varieties exhibited a higher percentage of rooted microshoots compared to *A. alnifolia* varieties (90% and 49%, respectively). The use of 1.0 mg/L of meta-topolin or its combination with 0.5 mg/L of benzylaminopurine in the nutrient medium during clonal micropropagation contributed to a subsequent increase in the number of rooted microshoots during the rhizogenesis stage.

The effect of activated charcoal at concentrations of 0.1g/L and 0.2 g/L on the rhizogenesis of *Amelanchier* varieties *in vitro* was determined. The rooting percentage of microshoots on a nutrient medium with 0.2 g/L of activated charcoal was 78%. The percentage of rooted microshoots on a nutrient medium with the addition of 0.1 g/L of activated charcoal did not differ significantly from the control, with a recorded value of 90%.

It was demonstrated that the roots of *Amelanchier* explants are characterized by a primary structure. The majority of the cross-sectional area of the root is occupied by parenchymal cells of the primary cortex. The root stele is composed of a pericycle, along with weakly differentiated protoxylem and protophloem. The use of activated charcoal in the nutrient medium reduces callus formation at the base of the explant during the rhizogenesis stage and decreases the thickness of the primary cortex in the roots of *Amelanchier* by 50%. This reduction in cortex thickness may positively influence the subsequent adaptation of regenerants to *ex vitro* conditions by enhancing water transport through the apoplast from the exodermis to the root stele.

Therefore, to improve the economic efficiency of clonal micropropagation of *Amelanchier* varieties *in vitro*, it is recommended to add meta-topolin at a concentration of 1.0 mg/L to the nutrient medium during the micropropagation stage, and to use a nutrient medium containing 1.0 mg/L indole-3-butyric acid with 0.1 g/L activated charcoal for rhizogenesis.

This research was funded by assignments 122042700002-6 of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation.

**Keywords:** saskatoon berry, rhizogenesis, activated charcoal, meta-topolin

## ВЛИЯНИЕ ИЗБЫТКА ЦИНКА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ БЕЛКОВ ТРАНСПОРТЕРОВ В ЛИСТЬЯХ *SINAPIS ALBA* L И *BRASSICA JUNCEA* L. (CZERN)

Репкина Н. , Казнина Н.

*Институт биологии – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук»*  
[nrt9@ya.ru](mailto:nrt9@ya.ru)

Среди представителей семейства Крестоцветных горчица белая (*Sinapis alba* L.) и горчица сарептская (*Brassica juncea* L. (Czern)) характеризуются высоким фиторемедиационным потенциалом в отношении тяжелых металлов. Известно, что оба вида растений способны накапливать ионы металлов в высоких концентрациях и при этом успешно расти и развиваться. Однако механизмы их металлоустойчивости исследованы фрагментарно, а полученные данные довольно противоречивы. В связи с этим, целью данной работы явилось изучение влияния избытка цинка в субстрате на экспрессию генов белков транспортеров у двух видов горчиц.

Опыты проводили на проростках горчицы белой сорта Радуга и горчицы сарептской сорта Ника, выращенных в условиях гидропоники на питательном растворе Хогланда-Арнона с оптимальным содержанием цинка (5 мг - контроль) или его избытком (1000 мг - опыт). Образцы листьев (50 мкг) фиксировали в жидком азоте. В дальнейшем проводили выделение тРНК согласно протоколу к наборам компании Евrogen (Москва). Уровень экспрессии генов  $Ca^{2+}/H^{2+}$  антипортера и белков ABC, NRAMP и YSL) анализировали методом ПЦР в режиме реального времени.

В ходе исследования было показано, что оба изученных вида растений накапливают довольно высокие концентрации цинка в подземных и надземных органах, причем практически в равной степени. При этом у опытных растений горчицы белой на 1 и 3 сутки от начала действия металла наблюдалось повышение экспрессии гена  $Ca^{2+}/H^{2+}$  антипортера относительно исходного уровня, что, возможно, связано с недостатком других двухвалентных элементов, которое в дальнейшем (на 7-е сутки) снижалось. Экспрессия гена транспортного белка ABC в течение 7 сут снижалась относительно исходного уровня. Поскольку белки данного семейства преимущественно транспорт макромолекулы, фитогормоны, вторичные метаболиты и др., их участие в адаптации растений к избытку цинка не было необходимым. Вместе с тем данный факт может свидетельствовать о вероятных нарушениях транспорта веществ в этих условиях.

У опытных растений горчицы сарептской в течение первых трех сут действия металла повышалась экспрессия генов, кодирующих белки NRAMP и YSL, участвующих в транспорте ионов в цитоплазму. Обнаруженный эффект, возможно, связан с дефицитом других элементов минерального питания, который, как известно, может возникнуть в условиях избытка цинка.

Таким образом, устойчивость горчицы белой и горчицы сарептской к избытку цинка связана с механизмами, предотвращающими возникновение в этих условиях дефицита и дисбаланса микроэлементов.

Работа выполнена в рамках государственного задания FMEN-2022-0004.

**Ключевые слова:** тяжелые металлы, горчица, гены, транспортеры, ПЦР

## EFFECT OF ZINC EXCESS ON THE EXPRESSION OF PROTEIN-TRANSPORTERS GENES IN THE LEAVES OF SINAPIS ALBA L. AND BRASSICA JUNCEA L. (CZERN)

Repkina N. , Kaznina N.

*Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences*  
[nrt9@ya.ru](mailto:nrt9@ya.ru)

Among the plant species of the Brassicaceae family, white mustard (*Sinapis alba* L.) and oriental mustard (*Brassica juncea* L. (Czern)) are characterized by high phytoremediation potential in relation to heavy metals. It is known that both plant species are capable of accumulating metal ions in high concentrations and at the same time successfully growing and developing. However, the mechanisms of their metal tolerance have been studied fragmentarily, and the data obtained are quite contradictory. In this regard, the aim of this study was to investigate the effect of excess zinc in the substrate on the expression of protein-transporters genes in two mustard species.

The experiments carried out on the seedlings of the white mustard (cv. Raduga) and oriental mustard (cv. Nika), grown in hydroponics conditions on the nutrient solution of the Hogland -Arnon with the optimal zinc (Zn) content (5 mg - control) or its excess (1000 mg - experiment). Leaf samples (50 µg) were fixed in liquid nitrogen. Subsequently, tRNA was allocated according to the protocol to the sets of the Eurogen (Moscow) company. The level of genes expression ( $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{2+}$  antiporters and ABC, NRAMP, YSL proteins) analyzed the PCR method in real time.

In the course of the study, it was shown that both species of plants accumulate high concentrations of zinc in the roots and aboveground organs, and almost equally. At the same time, in plants of white mustard on 1 and 3 days of Zn exposure, an increase in the expression of the  $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{2+}$  antiporter relative to the initial level was observed from the beginning of the metal effect, which may be associated with a lack of other two-glurate elements, which later (on the 7th day) was reduced. The expression of the ABC transport protein gene for 7 days has declined relative to the initial level. Since the proteins of this family mainly transport macromolecules, phytohormones, secondary metabolites, etc., their participation in the adaptation of plants to excess zinc was not necessary. At the same time, this fact may indicate probable violations of the transport of substances in these conditions.

In oriental mustard seedlings, during the first three days of metal impact, increased the expression of genes encoding NRAMP and YSL proteins participating in the transport of ions into the cytoplasm. The discovered effect may be associated with a deficiency of other elements of mineral nutrition, which, as known, can occur in conditions of excess zinc.

Thus, the stability of the white mustard and the oriental mustard to the excess of zinc is associated with the mechanisms that prevent the occurrence of a deficiency and imbalance of trace elements under these conditions.

The study financed from the federal budget under state orders (FMEN-2022-0004).

**Keywords:** heavy metal, mustard, genes, transporters, PCR

## ИТОГИ ИЗУЧЕНИЯ БИОРЕСУРСНОЙ КОЛЛЕКЦИИ ПИОНОВ ЮЖНО-УРАЛЬСКОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА-ИНСТИТУТА УФИЦ РАН

Реут А. А.

*Южно-Уральский ботанический сад-институт – обособленное структурное подразделение  
Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального  
исследовательского центра Российской академии наук  
[cvetok.79@mail.ru](mailto:cvetok.79@mail.ru)*

Лаборатория цветоводства и селекции Южно-Уральского ботанического сада-института УФИЦ РАН образована в 2001 году на базе общей лаборатории интродукции растений, существовавшей с 1987 года. Лаборатория занимается интродукцией цветочно-декоративных растений из других регионов и стран, а также селекцией новых сортов на основе генофонда естественной и культурной флоры.

Коллекционный фонд лаборатории включает 1610 таксонов цветочно-декоративных растений, относящихся к 356 видам, 140 родам и 51 семейству.

Самая многочисленная и содержательная коллекция рода пион (*Paeonia* L.). Она насчитывает 20 видов и 500 сортов и форм, которые представляют все садовые группы: по происхождению, форме цветка, срокам цветения и окраске. Коллекция ежегодно пополняется и представлена не только традиционными травянистыми пионами, но и древовидными таксонами и новыми сортами из группы *Itoh*-гибриды.

Основная научно-исследовательская работа с коллекцией охватывает следующие направления: поддержание и пополнение; интродукция дикорастущих видов и подвидов; сортоизучение форм и сортов пионов; разработка методов ускоренного размножения; селекция и гибридизация, направленная на изучение наследования декоративных признаков пионов. В последние годы были созданы новые сорта пиона травянистого ('Аврора', 'Аркаим', 'Иремель', 'Людмила Миронова', 'Мечта С.П. Королёва', 'Мустай Карим', 'Ольга Кравченко', 'Песня Курая', 'Полярник 8', 'Рудольф Нуреев', 'Сабантуй', 'Сашенька', 'Торнадо', 'Урал Батыр', 'Уфимец', 'Чак-Чак', 'Чингиз Хан', 'Июнь', 'Утро Туманное', 'Башкирский', 'Сережа', 'Уралец', 'Огни Уфы', 'Розовая Дымка', 'Салават'). Все новые сорта устойчивы неблагоприятным погодным условиям, болезням и вредителям, зимостойки, засухоустойчивы и жаровыносливы, они рекомендованы для выращивания в средней полосе России.

С 2013 года проводится работа по сравнительному изучению влияния современных регуляторов роста растений на всхожесть семян, рост и развитие представителей рода *Paeonia*. Испытано 23 препарата отечественного производства (Корневин, Гетероауксин, Энерген и др.). Объектами изучения были 13 видов (*P. anomala*, *P. hybrida*, *P. lactiflora*, *P. mlokosewitschii*, *P. tenuifolia* и др.) и 14 сортов ('Мечта С.П. Королёва', 'Полярник 8', 'Урал Батыр', 'Уфимец' и др.). Выявлено положительное влияние регуляторов роста на пионы в условиях открытого грунта. Для повышения полевой всхожести семян наиболее эффективными препаратами оказались Энерген, Гетероауксин, ТД-2, ТД-4, Фитон, Крезацин. Они увеличили данный показатель в 1,1–1,6 раза по сравнению с контролем.

Проведено фитохимическое исследование некоторых таксонов рода *Paeonia* четырех видов: *P. peregrina*, *P. officinalis*, *P. lactiflora*, *P. delavayi*; четырех сортов, полученных от *P. lactiflora*: 'Мечта С.П. Королёва', 'Ольга Кравченко', 'Полярник 8', 'Сабантуй' и семи сортов, принадлежащих к группе *Itoh*-гибриды: 'Border Charm', 'Canary Brilliants', 'Hillary', 'PrairieCharm', 'LemonDream', 'ScarletHeaven', 'YellowWaterlily'. Проведен товароведческий анализ сырья, определено количественное содержание микро- и макроэлементов, аминокислот.

Исследование выполнено в рамках государственного задания № 122033100041-9 по программе «Биоразнообразие природных систем и растительные ресурсы России: оценка состояния и мониторинг динамики, проблемы сохранения, воспроизводства, увеличения и рационального использования».

RESULTS OF THE STUDY OF THE BIORESOURCE COLLECTION OF PAEONIA OF THE  
SOUTH- URAL BOTANICAL GARDEN-INSTITUTE OF UFA FEDERAL RESEARCH  
CENTER OF RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES

Reut A.

*South-Ural Botanical Garden-Institute of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences*  
[cvetok.79@mail.ru](mailto:cvetok.79@mail.ru)

The laboratory of floriculture and breeding of the South-Ural Botanical Garden-Institute of Ufa Federal Research Center of Russian Academy of Sciences was established in 2001 on the basis of the general laboratory of plant introduction, which existed since 1987. The laboratory is engaged in the introduction of flower and ornamental plants from other regions and countries, as well as the selection of new varieties based on the gene pool of natural and cultivated flora. The laboratory's collection fund includes 1610 taxa of ornamental plants belonging to 356 species, 140 genera and 51 families.

The most numerous and informative collection of the genus *Paeonia* L. It has 20 species and 500 varieties and forms that represent all garden groups: by origin, flower shape, flowering time and color. The collection is replenished annually and is represented not only by traditional herbaceous peonies, but also by tree taxa and new varieties from the *Itoh-hybrid* group.

The main research work with the collection covers the following areas: maintenance and replenishment; introduction of wild species and subspecies; study of peony forms and varieties; development of accelerated reproduction methods; selection and hybridization aimed at studying the inheritance of decorative traits of peonies. In recent years, new varieties of herbaceous peony have been created ('Aurora', 'Arkaim', 'Iremel', 'Lyudmila Mironova', 'Mechta S.P. Koroleva', 'Mustai Karim', 'Olga Kravchenko', 'Pesnya Kuraya', 'Polyarnik 8', 'Rudolf Nureyev', 'Sabantuy', 'Sashenka', 'Tornado', 'Ural Batyr', 'Ufimets', 'Chak-Chak', 'Chengis Khan', 'Iyun', 'Utro Tumannoye', 'Bashkirskiy', 'Seryozha', 'Uralets', 'Ogni Ufy', 'Rozovaya Dymka', 'Salavat'). All new varieties are resistant to adverse weather conditions, diseases and pests, winter-hardy, drought-resistant and heat-tolerant, they are recommended for cultivation in the central zone of Russia.

Since 2013, work has been carried out on a comparative study of the effect of modern plant growth regulators on seed germination, growth and development of representatives of the genus *Paeonia*. 23 domestically produced preparations were tested (Kornevin, Heteroauxin, Energen, etc.). The objects of the study were 13 species (*P. anomala*, *P. hybrida*, *P. lactiflora*, *P. mlokosewitschii*, *P. tenuifolia*, etc.) and 14 varieties ('Mechta S.P. Koroleva', 'Polyarnik 8', 'Ural Batyr', 'Ufimets', etc.). A positive effect of growth regulators on peonies in open ground conditions was revealed. The most effective preparations for increasing field germination of seeds were Energen, Heteroauxin, TD-2, TD-4, Fiton, Krezatsin. They increased this indicator by 1,1-1,6 times compared to the control.

A phytochemical study was conducted of some taxa of the genus *Paeonia* of four species: *P. peregrina*, *P. officinalis*, *P. lactiflora*, *P. delavayi*; four varieties obtained from *P. lactiflora*: 'Mechta S.P. Koroleva', 'Olga Kravchenko', 'Polyarnik 8', 'Sabantuy' and seven varieties belonging to the *Itoh-hybrid* group: 'Border Charm', 'Canary Brilliants', 'Hillary', 'Prairie Charm', 'Lemon Dream', 'Scarlet Heaven', 'Yellow Waterlily'. A commodity analysis of the raw materials was carried out, the quantitative content of micro- and macroelements, amino acids was determined.

The study was carried out within the framework of state assignment No. 122033100041-9 under the prog «Biodiversity of natural systems and plant resources of Russia: assessment of the state and monitoring of dynamics, problems of conservation, reproduction, increase and rational use».



## МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ УРОЖАЙНОСТИ АБРИКОСА НА ПРИМЕРЕ СОРТА АЛЬДЕБАР

Саплев Н. М. , Корзин В. В. , Горина В. М.

ФГБУН "Никитский ботанический сад - Национальный научный центр РАН"  
[saplev.upk@yandex.ru](mailto:saplev.upk@yandex.ru)

Плоды абрикоса обладают высокими вкусовыми и диетическими качествами. Они содержат значительное количество сахаров, органических кислот, пектинов, витаминов и биологических веществ с лечебными свойствами.

Сегодня в Государственном реестре селекционных достижений по Северо-Кавказскому региону, куда входит и Республика Крым, представлено 38 сортов абрикоса. Природно-климатические условия Крыма благоприятны для выращивания генотипов абрикоса с высококачественными плодами. Расширение ареалов производственного возделывания абрикоса может быть ограничено погодно-климатическими условиями в критические для роста и развития периоды, например, дифференциации генеративных почек в июле-августе и цветения в марте-апреле.

Математическое моделирование – один из способов прогнозировать продуктивность сельскохозяйственных растений, с учетом погодно-климатических показателей. Урожайность насаждений при этом определяется не каждым лимитирующим фактором в отдельности, а их совокупным влиянием на растение.

В связи с этим, построение математических моделей для сортов абрикоса актуально, так как позволит прогнозировать возможность его выращивания в новых регионах возделывания.

Целью исследований было математическое моделирование урожайности нового сорта абрикоса Альдебар, в зависимости от влияния комплекса факторов: морозостойкости, закладки почек, среднесуточной температуры воздуха во время цветения, суммы осадков в июле и относительной влажности во время цветения.

Для исследований использовали данные наблюдений 2020–2022 гг. Проведенный множественный регрессионный анализ показал влияние различных факторов на продуктивность растений абрикоса. Согласно расчетам, уравнение множественной регрессии имеет следующий вид:

$Y = 106,4 - 0,61X_1 + 7,19X_2 - 5,59X_3 - 0,35X_4 + 0,95X_5$ ; где  $X_1$  – морозостойкость, % живых почек,  $X_2$  – закладка генеративных почек, баллов,  $X_3$  – среднесуточная температура воздуха во время цветения, °С,  $X_4$  – сумма осадков в июле, мм,  $X_5$  – относительная влажность во время цветения, %.

Уравнение существенно на 5% уровне значимости. Свободный член уравнения характеризует начальную ординату гиперплоскости регрессии. Коэффициенты регрессии показывают, насколько в среднем меняется продуктивность при изменении величины каждого фактора на единицу при фиксированных значениях второго фактора. Уравнение демонстрирует, что для абрикоса сорта Альдебар лимитирующими факторами являются морозостойкость, закладка генеративных почек, среднесуточная температура во время цветения, сумма осадков в июле и относительная влажность во время цветения. Коэффициент детерминации этого уравнения ( $R^2 = 0,94$ ) свидетельствует о том, что продуктивность сорта Альдебар на 94% определяется факторами, входящими в уравнение. Пользуясь уравнением, можно прогнозировать урожайность абрикоса данного сорта, в том числе и для расширения ареала возделывания.

**Ключевые слова:** математическое моделирование, урожайность, сорт, регрессия, лимитирующие факторы.

## MATHEMATICAL MODELING OF APRICOT YIELD USING THE EXAMPLE OF THE ALDEBAR VARIETY

Saplev N. M. , Korvin V. V. , Gorina V. M.

*FSFIS "The Nikitsky Botanical Gardens - National Scientific Center of the RAS"*  
[saplev.upk@yandex.ru](mailto:saplev.upk@yandex.ru)

Apricot fruits have high taste and dietary qualities. They contain a significant amount of sugars, organic acids, pectins, vitamins and biological substances with medicinal properties. Today, the State Register of Breeding Achievements for the North Caucasus region, which includes the Republic of Crimea, includes 38 apricot varieties. The natural and climatic conditions of Crimea are favorable for growing apricot genotypes with high-quality fruits. The expansion of areas for industrial cultivation of apricot may be limited by weather and climatic conditions during periods critical for growth and development, for example, differentiation of generative buds in July-August and flowering in March-April.

Mathematical modeling is one of the ways to predict the productivity of agricultural plants, taking into account weather and climatic indicators. The productivity of plantings is determined not by each limiting factor separately, but by their combined influence on the plant. In this regard, the construction of mathematical models for apricot varieties is relevant, as it will make it possible to predict the possibility of its cultivation in new cultivation regions.

The purpose of the research was to mathematically model the yield of the new apricot variety Aldebar, depending on the influence of a set of factors: frost resistance, bud formation, average daily air temperature during flowering, the amount of precipitation in July and relative humidity during flowering. Observational data from 2020–2022 were used for research. The multiple regression analysis carried out showed the influence of various factors on the productivity of apricot plants. According to calculations, the multiple regression equation has the following form:  $Y=106.4-0.61X_1+7.19X_2-5.59X_3-0.35X_4+0.95X_5$ ; where  $X_1$  is frost resistance, % of living buds,  $X_2$  is the formation of generative buds, points,  $X_3$  is the average daily air temperature during flowering, °C,  $X_4$  is the amount of precipitation in July, mm,  $X_5$  is relative humidity during flowering, %.

The equation is significant at the 5% significance level. The free term of the equation characterizes the initial ordinate of the regression hyperplane. Regression coefficients show how much productivity changes on average when the value of each factor changes by one, with fixed values of the second factor. The equation demonstrates that for the Aldebar apricot variety, the limiting factors are frost resistance, the formation of generative buds, the average daily temperature during flowering, the amount of precipitation in July and relative humidity during flowering. The coefficient of determination of this equation ( $R^2=0.94$ ) indicates that the productivity of the Aldebar variety is 94% determined by the factors included in the equation. Using the equation, it is possible to predict the yield of apricot of a given variety, including for expanding the cultivation area.

**Keywords:** mathematical modeling, yield, variety, regression, limiting factors.

## РАЗРАБОТКА ИННОВАЦИОННОЙ ТЕХНОЛОГИИ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ СОРТИМЕНТА КОСТОЧКОВЫХ КУЛЬТУР

СеитмамUTOва Э.С.<sup>1</sup>, Хватков П.А.<sup>1</sup>, Тимербаев В.Р.<sup>1,2</sup>, Жданова И.В.<sup>1</sup>, Долгов С.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Федеральное Государственное Бюджетное Учреждение Науки «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад — Национальный научный центр РАН»

<sup>2</sup> Филиал Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН  
[edie.seitmamutova.97@bk.ru](mailto:edie.seitmamutova.97@bk.ru)

Косточковые культуры – одна из ведущих групп многолетних плодовых растений, к основным представителям которых относят абрикос и персик, благодаря своим органолептическим свойствам и высокой пищевой ценности.

Основным препятствием для промышленного производства косточковых культур принято считать вирус оспы сливы (PPV), возбудитель болезни Шарка.

Получить полностью толерантные формы растений к этому заболеванию традиционными методами селекции невозможно. Технология интеграции кассеты РНК-интерференции к гену белка оболочки вируса в геном растения позволяет повысить устойчивость растений к PPV.

Методом генетической модификации получено 75 независимых трансгенных линий химерных растений абрикоса путем формирования корневой системы, экспрессирующей РНК-интерференционные последовательности к гену белка оболочки вируса Шарка с использованием вектора pCam-PPV-rolB-dsRed, с эффективностью трансформации 22,1% для сорта Киото, 46,8% для Крокуса, 13,0% для Искорки Тавриды и 28,2% для Южанина.

Из 75 полученных химерных линий 52 были проанализированы методом ПЦР. Из них 7 линий были контаминированы генами агробактериальной *vir* - группы, 46 линий содержали гетерологичную ДНК-вставку (ген *hptII*), а 41 линия содержала целевую последовательность *aPPV* - *pdk* intron - *sPPV*.

Для оценки устойчивости к вирусу PPV почки сливы, инфицированные штаммом Marcus, были привиты на однолетние химерные и контрольные растения абрикоса. Визуальные симптомы вирусной инфекции не отслеживались. Метод ОТ-ПЦР подтвердил наличие вирусной инфекции в листьях, и отсутствие в корневой системе, что свидетельствует об отсутствии транспорта малых интерферирующих РНК в надземные части растений.

Исследование выполнено за счет средств гранта Курчатковского геномного центра НБС-ННЦ № 075-15-2019-1670 на базе Уникальной научной установки «ФИТОБИОГЕН».

**Ключевые слова:** абрикос, косточковые культуры, РНК-интерференции, химеры, *in vitro*, PPV.

## DEVELOPMENT OF INNOVATIVE TECHNOLOGY TO IMPROVE THE VARIETY OF STONE FRUIT CROPS

Seitmamutova E.S.<sup>1</sup>, Khvatkov P.A.<sup>1</sup>, Timerbaev V.R.<sup>1,2</sup>, Zhdanova I.V.<sup>1</sup>, Dolgov S.V.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Federal State Funded Institution of Science "The Labor Red Banner Order Nikita Botanical Gardens – National Scientific Center of the RAS"

<sup>2</sup> Branch of Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry  
[edie.seitmamutova.97@bk.ru](mailto:edie.seitmamutova.97@bk.ru)

Stone fruits are one of the leading groups of perennial fruit plants, the main representatives of which are apricot and peach, due to their organoleptic properties and high nutritional value.

Plum pox virus (PPV), the causative agent of Shark's disease, is considered to be the main obstacle for industrial production of stone fruit crops.

It is impossible to obtain fully tolerant plant forms to this disease by traditional breeding methods. The technology of integration of RNA interference cassette to the gene of virus envelope protein into the plant genome allows increasing plant resistance to PPV.

By the method of genetic modification, 75 independent transgenic lines of chimeric apricot plants were obtained by forming a root system expressing RNA interference sequences to the Sharkey virus envelope protein gene using the vector pCam-PPV-roIB-dsRed, with transformation efficiency of 22.1% for the variety Kioto, 46.8% for Krokus, 13.0% for Iskoroka Tavrida, and 28.2% for Yuzhanin.

Of the 75 chimeric lines obtained, 52 were analyzed by PCR. Of these, 7 lines were contaminated with genes of the agrobacterial *vir* - group, 46 lines contained a heterologous DNA insert (*hptII* gene), and 41 lines contained the target sequence aPPV - *pdk* intron - sPPV.

To assess resistance to PPV, plum buds infected with the Marcus strain were inoculated onto annual chimeric and control apricot plants. Visual symptoms of virus infection were not monitored. The OT-PCR method confirmed the presence of virus infection in leaves and absence in the root system, indicating the absence of transport of small interfering RNAs to the aboveground parts of the plants.

The study was carried out at the expense of the grant of the Kurchatov Genomic Center NBS-NSC No. 075-15-2019-1670 on the basis of the Unique Scientific Facility "FITOBIOGEN".

**Keywords:** apricot, chimeras, *in vitro*, fruit crops, RNA -interference, PPV

## ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИОННЫХ ДЕТЕРГЕНТОВ ДЛЯ ЭКСТРАКЦИИ БЕЛКОВ МУКИ СЕМЯН МУТАНТОВ СОРГО, НЕСУЩИХ ГЕНЕТИЧЕСКУЮ КОНСТРУКЦИЮ ДЛЯ РНК-САЙЛЕНСИНГА ГЕНА ГАММА-КАФИРИНА

Селиванова М. Н.<sup>1</sup>, Селиванов Н. Ю.<sup>1</sup>, Эльконин Л. А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ Саратовский научный центр РАН (ИБФРМ РАН), Саратов*

<sup>2</sup> *ФГБНУ ФАНЦ Юго-Востока, Россия, Саратов*  
[Sellivanoova@yandex.ru](mailto:Sellivanoova@yandex.ru)

Сорго - перспективная засухоустойчивая зерновая культура. Одним из инновационных подходов для увеличения питательной ценности семян сорго является применение методов генной инженерии. Повышение экстрагируемости и перевариваемости кафиринов - запасных белков семян сорго представляется основной задачей в этом направлении.

В работе исследовали экстрагируемость запасных белков муки семян сорго сорта Аванс и его мутантов, несущих генетическую конструкцию для РНК-сайленсинга гена гамма-кафирина, (поколение T1). Для экстракции использовали группу ионных детергентов: ДОХ (дезоксихолат Na – природный анионный детергент), SDS (додецилсульфат Na – анионный детергент, широко используемый для экстракции белков), СТАВ (цетилтриметиламмоний бромид, являющийся катионным аналогом SDS). Эффективность экстракции анализировали по данным SDS электрофореза в градиентном геле с использованием буферной системы Laemmli.

Показано, что использованные ионные детергенты различаются по экстрагирующей эффективности в отношении запасных белков семян сорго. ДОХ сольбилизирует сопутствующие белки, но практически не экстрагирует кафирины. SDS селективно экстрагирует кафирины, что позволяет выявить различия их содержания в муке разных мутантов. Наибольшая эффективность экстракции белков наблюдается при использовании СТАВ, который сольбилизирует максимальное количество и кафиринов, и белков других групп.

Для исследования субъединичного состава экстрагируемых белков был проведен анализ образцов в присутствии и в отсутствии дитиотрептола (ДТТ) - восстановителя S-S связей. Установлено, что ДТТ вызывает качественное изменение полипептидных профилей образцов. Сопоставление электрофоретических спектров демонстрирует, что основная часть белков группы кафиринов экстрагируются в двух субъединичной, и в меньшей степени трех субъединичной формах. Также установлено, что ДОХ и СТАВ эффективно экстрагируют единый набор сопутствующих белков некафириновой группы. Фракция сопутствующих белков, в отличие от кафиринов, экстрагируется в мономерной форме.

Показано выраженное увеличение экстрагируемости белков кафириновой группы, а также низкомолекулярной фракции сопутствующих белков у мутантов с конструкцией для сайленсинга гамма-кафирина. Для ревертанта, у которого произошла утрата конструкции для сайленсинга, наоборот, отмечается снижение экстрагируемости запасных белков различных групп.

Результаты исследования демонстрируют определяющую роль межмолекулярного взаимодействия межсубъединичных S-S связей в процессе упаковки белков кафиринов различных классов в семенах сорго. Выявленные различия в экстрактивности запасных белков различных классов у полученных мутантов сорго могут опосредоваться изменением структуры белковых телец эндосперма, в частности, соотношением кафиринового кристаллоида и аморфного белкового матрикса.

Исследования проведены при поддержке Российского Научного фонда (грант №24-16-00063).

*Ключевые слова:* SDS-электрофорез, ионные детергенты, экстракция белков, кафирины, РНК-сайленсинг, сорго.

# STUDY OF THE EFFECTIVENESS OF IONIC DETERGENTS FOR THE EXTRACTION OF FLOUR PROTEINS FROM THE SEEDS OF SORGHUM MUTANTS CARRYING A GENETIC CONSTRUCT FOR RNA SILENCING OF THE GAMMA-KAFIRIN GENE

Selivanova M. N.<sup>1</sup>, Selivanov N. Y.<sup>1</sup>, Elkonin L. A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Saratov Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences IBPPM RAS, Saratov*

<sup>2</sup> *FANC of the South-East, Russia, Saratov*

[Sel1ivanoova@yandex.ru](mailto:Sel1ivanoova@yandex.ru)

Sorghum is a promising drought-resistant grain crop. One of the innovative approaches to increase the nutritional value of sorghum seeds is the use of genetic engineering methods. Increasing the extractability and digestibility of kafirins, the storage proteins of sorghum seeds, seems to be the main task in this direction.

The work investigated the extractability of storage proteins of sorghum seed flour of the Avance variety and its mutants carrying a genetic construct for RNA silencing of the gamma-kafirin gene (generation T1). For extraction, a group of ionic detergents was used: DOX (Na deoxycholate - a natural anionic detergent), SDS (Na dodecyl sulfate - an anionic detergent, widely used for protein extraction), CTAB (cetyltrimethylammonium bromide, which is a cationic analogue of SDS). Extraction efficiency was analyzed by SDS gradient gel electrophoresis using the Laemmli buffer system.

The ionic detergents used were shown to differ in their extraction efficiency for sorghum seed storage proteins. DOX solubilizes non-kafirin group proteins, but practically does not extract kafirins. SDS selectively extracts kafirins, which makes it possible to identify differences in their content in the flour of different mutants.

It has been shown that the ionic detergents used differ in the efficiency of protein extraction for storing sorghum seeds. DOX solubilizes proteins that do not belong to the kafirin group, but practically does not extract kafirins. SDS selectively extracts different kafirins proteins, which makes it possible to identify differences in their content in the flour of different mutants. The the highest efficiency of protein extraction is observed when using CTAB, which solubilizes the maximum amount of both kafirins and proteins of other groups.

To study the subunit composition of extracted proteins, samples were analyzed in the presence and absence of dithiothreitol (DTT), a S-S bond reducer. It was established that DTT causes a qualitative change in the polypeptide profiles of the samples. A comparison of electrophoretic spectra demonstrates that the main part of the kafirin group proteins are extracted in two subunit and three subunit forms. It was also found that DOX and CTAB efficiently extracted a single set of associated non-kafirin group proteins. The fraction of non kafirins proteins, unlike kafirins, is extracted in monomeric form.

A pronounced increase in the extractability of proteins of the kafirin group, as well as the low-molecular fraction of accompanying proteins, was shown in mutants with a construct for silencing gamma-kafirin. For a revertant in which the silencing construct has been lost, on the contrary, there is a decrease in the extractability of storage proteins of various groups.

The results of the study demonstrate the significant role of intermolecular interaction and intersubunit S-S bonds in the process of packaging of kafirin proteins of various classes in sorghum seeds. The identified differences in the extractivity of storage proteins of different classes in the obtained sorghum mutants may be mediated by changes in the structure of endosperm protein bodies, in particular, by the ratio of kafirin crystalloid and amorphous protein matrix.

The research was carried out with the support of the Russian Science Foundation (grant No. 24-16-00063).

**Keywords:** SDS electrophoresis, ionic detergents, protein extraction, kafirins, RNA silencing, sorghum.

**БИОРЕСУРСНАЯ КОЛЛЕКЦИЯ РОДА *IRIS* ФИЦ СЦ РАН****Слепченко К. В. , Рындин А. В.**

ФГБУН Федеральный исследовательский центр «Субтропический научный центр Российской академии наук»  
[slkkot1977@gmail.com](mailto:slkkot1977@gmail.com)

Род *Iris* самый распространенный и популярный из семейства Iridaceae. Представители данного рода используются в ландшафтном строительстве, флористике, встречаются в литературных и художественных произведениях. Важное значение отводится ирису в качестве объекта научных исследований.

Регистрацией, сбором информации и продвижением культуры ириса на международном уровне занимается Американское общество ирисоводов – The American Iris Society (AIS). AIS разработало современную садовую классификацию, которая включает Бородатые (Bearded) и Безбородые (Unbearded) ирисы, а также ботаническую классификацию с под родами корневищных ирисов: *Iris* (имеющие бородку) и *Limniris* (без бородки), с секциями *Lohiris* и *Limniris*.

Биоресурсная коллекция рода *Iris* в Субтропическом научном центре РАН начала формироваться с 1979 г. В настоящее время она насчитывает 279 сортообразцов. Доля Бородатых ирисов (Bearded Irises) составляет 80,0 %. К ним относятся (TB) Tall Bearded Irises – Высокорослые бородатые ирисы (87,0 %), (IB) Intermediate Bearded Irises – Интермедия ирисы (1,5%), и две группы карликовых бородатых ирисов (SDB) Standard Dwarf Bearded (11 %) и (MDB) Miniature Dwarf Bearded Irises (0,5 %). К Безбородым ирисам относятся Сибирские ирисы – (SIB) Siberian Irises, они соответствуют Series *Sibericae* Section *Limniris* (ботаническая классификация) и составляют 11,5 %, Японские ирисы – (JI) Japanese Irises, соответствуют ботаническому виду *Iris ensata*, их 3,0 %, Ирисы Спурия – (SPU) Spuria Irises (Series *Spuriae* Section *Limniris*), их 1,5 %. Также в коллекции поддерживаются 2 класса природных видов ирисов: (SPEC) Species (природные виды) и (SPEC-X) Species Crosses (гибриды природных видов) и составляют 4 %.

В результате проведенных исследований установлены сроки цветения сортообразцов биоресурсной коллекции в условиях влажных субтропиков России и выделены группы для каждого класса. Первая группа с наиболее ранним цветением: SDB и MDB (с I декады апреля), TB и IB (с III декады апреля), SIB (с I декады мая), SPEC (с III декады апреля – I декады мая). Вторая группа со средними сроками: SDB и MDB (со II декады апреля), TB и IB (со II декады мая), SIB (со II декады мая), SPEC (со II–III декады мая). Третья группа с поздними сроками: SDB и MDB (с III декады апреля), TB и IB (с III декады мая), SIB (с III декады мая), SPEC (с I декады июня). В четвертой группе с позднеосенним-раннезимним сроком цветения один вид из группы SPEC – *I. unguicularis*.

Результаты биометрических измерений позволили группировать коллекцию по высоте цветоноса. Среди Бородатых ирисов большинство отнесены к группе высокорослых (выше 70 см) – 75 %, среднерослых (37–70 см) – 11 %, карликовых (ниже 37 см) – 14 %. Сортообразцы классов SIB, JI и SPU распределены в группы высокорослых (выше 60 см) – 13, 38 и 75 %, соответственно, среднерослых (35–60 см) – 74, 62 и 25 %, низкорослых (ниже 35 см) – 13, 0 и 0 %. Среди SPEC высокорослых (выше 60 см) – 46 %, среднерослых (35–60 см) – 36 %, карликовых (ниже 35 см) – 18 %.

Таким образом, биоресурсная коллекция рода *Iris* ФИЦ СЦ РАН включает 279 сортообразцов из 5 классов садовой классификации. Сгруппирована по срокам цветения в зоне влажных субтропиков России (с начала апреля по конец июня), составлен конвейер цветения; по высоте растений: низко-, средне- и высокорослые. Полученные данные позволят решить вопросы возможности дальнейшего использования в озеленении, а также введения в культуру природных видов.

Публикация подготовлена в рамках реализации государственного задания ФИЦ СЦ РАН FGRW-2024-0003, № госрегистрации 122040700985-0-4.1.1;4.1.5.

*Ключевые слова:* биоресурсная коллекция, интродукция, *Iris*, сорт, сроки цветения.

## IRIS BIORESOURCE COLLECTION OF FRC SSC OF RAS

Slepchenko K. , Ryndin A.

Federal Research Centre the Subtropical Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences  
[slkkot1977@gmail.com](mailto:slkkot1977@gmail.com)

The genus *Iris* is the most widespread and popular from the Iridaceae family. Representatives of this genus are used in landscape construction, floristry, and are found in literary and artistic works. An important role is assigned to iris as an object of scientific research.

The American Iris Society (AIS) is engaged in the registration, collection of information and promotion of iris plant at the international level. AIS has developed a modern garden classification, which includes Bearded and Beardless Irises, as well as a botanical classification with subgenera of Rhizomatous Irises: *Iris* (having a beard) and *Limniris* (without a beard), with sections *Lohiris* and *Limniris*.

The bioresource collection of the genus *Iris* has begun to form at the Subtropical Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences since 1979. Currently, it has 279 cultivars. The proportion of Bearded Irises is 80.0 %. These include (TB) Tall Bearded Irises (87.0%), (IB) Intermediate Bearded Irises (1.5 %), and two groups of (SDB) Standard Dwarf Bearded (11%) and (MDB) Miniature Dwarf Bearded Irises (0.5 %). Beardless Irises include (SIB) Siberian Irises, they correspond to the Series *Sibericae* Section *Limniris* (botanical classification) and are 11.5 %, (JI) Japanese Irises correspond to the botanical species *Iris ensata*, they make up 3.0 %, (SPU) Spuria Irises (Series *Spuriae* Section *Limniris*) make up 1.5 %. The collection also supports 2 classes of natural iris species: (SPEC) Species and (SPEC-X) Species Crosses and account for 4 %.

As a result of the conducted research, flowering terms have been established for the cultivar samples of the bioresource collection growing in the humid subtropics of Russia, and groups for each class have been identified. The first group has the earliest flowering: SDB and MDB (from early April), TB and IB (from late April), SIB (from early May), SPEC (from late April – early May). The second group has average terms: SDB and MDB (from mid-April), TB and IB (from mid-May), SIB (from mid-May), SPEC (from mid–late May). The third group has late terms: SDB and MDB (from late April), TB and IB (from late May), SIB (from late May), SPEC (from early June). The fourth group has late autumn-early winter flowering terms and includes one species from the SPEC group – *I. unguicularis*.

The results of biometric measurements made it possible to group the collection according to the height of the peduncle. Among Bearded Irises, the majority are classified as tall (above 70 cm) – 75 %, medium–grown (37-70 cm) – 11 % and dwarf (below 37 cm) – 14 %. Cultivar samples of SIB, JI and SPU classes are distributed into the groups of tall (above 60 cm) – 13, 38 and 75 %, respectively, medium–grown (35-60 cm) – 74, 62 and 25 %, and short (below 35 cm) – 13, 0 and 0 %. Among SPEC, there are tall (above 60 cm) – 46 %, medium-grown (35-60 cm) – 36 % and dwarf (below 35 cm) – 18 %.

Thus, *Iris* bioresource collection of FRC SSC of RAS includes 279 cultivar samples from 5 classes of garden classification. It is grouped by flowering terms in the humid subtropical zone of Russia (from the beginning of April to the end of June), a flowering conveyor has been compiled; according to height, the plants are short, medium-grown and tall. The data obtained will help to solve the issues of possible further use in landscaping, as well as those of the introduction of natural species.

The study was funded by the state assignment research of FRC SSC RAS FGRW-2024-0003, project No. 124022000093-1

Keywords: bioresource collection, introduction, *Iris*, cultivar, flowering terms.



## ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА LBD2-6 В ОТВЕТЕ НА НАЛИЧИЕ АЗОТА И ВОДЫ У КАРТОФЕЛЯ

Соколов М. Ф. , Ганчева М. С. , Лутова Л. А.

*Кафедра генетики и биотехнологии, Санкт-Петербургский Государственный Университет,  
Санкт-Петербург  
[sokolov\\_matvey04@mail.ru](mailto:sokolov_matvey04@mail.ru)*

Наличие азота и воды в среде являются ключевыми факторами, регулирующими развитие картофеля, в том числе в хозяйственно важных аспектах. Так, высокое содержание азота в среде тормозит клубнеобразование. При этом, картофель, обладая неглубоко залегающими корнями, также подвержен дефициту воды, который приводит к ряду проблем на последующих стадиях развития, таких как уменьшение числа и размера листьев, высоты растения. Также происходит снижение эффективности фотосинтеза и фиксации CO<sub>2</sub>, что влияет на количество и качество урожая.

Транскрипционные факторы LBD (Lateral organ Boundaries Domain) обнаружены у многих цветковых растений и регулируют рост и развитие растений. В нашем исследовании, ген *StLBD2-6* у картофеля *Solanum tuberosum* оказался среди дифференциально экспрессируемых генов, выявленных при анализе транскриптомов растений, растущих в среде с большим и малым содержанием азота, а также в условиях нормального снабжения и дефицита воды. При этом после проведенного в исследовании филогенетического анализа, ген *StLBD2-6* оказался близок к генам *Arabidopsis thaliana AtLBD37*, *AtLBD38*, *AtLBD39*, которые связаны с ингибированием синтеза антоцианов в ответ на недостаток азота. Также ранее с помощью ПЦР в реальном времени было показано изменение уровня экспрессии гена *StLBD2-6* в стебле картофеля при недостатке воды. В связи с этим, можно предположить, что ген *StLBD2-6* у картофеля может быть связан с регуляцией как водного, так и азотного обмена. С целью выяснить это, была создана конструкция для сверхэкспрессии гена *StLBD2-6* на основе вектора pMDC32 и проведена трансформация ей картофеля.

## THE STUDY OF THE ROLE OF THE TRANSCRIPTION FACTOR LBD2-6 IN POTATO IN RESPONSE TO NITROGEN AND WATER AVAILABILITY.

Sokolov M. F. , Gancheva M. S. , Lutova L. A.

*Department of Genetics and Biotechnology, Saint Petersburg State University*  
[sokolov\\_matvey04@mail.ru](mailto:sokolov_matvey04@mail.ru)

The presence of nitrogen and water in the environment is key factors that regulate the development of potato, including economically important aspects. For example, the high nitrogen content in the environment inhibits tuberous formation. At the same time, potato plants have shallow roots also susceptible to water shortage, which cause list of problems in subsequent stages of development, such as a decrease in quantity of leaves and leaves` size, plant height. There is also a decrease in the efficiency of photosynthesis and CO<sub>2</sub> fixation, which affects the quantity and quality of the crop.

LBD transcription factors (Lateral organ Boundaries Domain) are found in many flowering plants and regulate plant growth and development. In that study, the potato gene *StLBD2-6* of *Solanum tuberosum* was detected as differentially expressed gene identified during the analysis of transcriptomes of plants growing in high and low nitrogen environments, as well as in conditions of normal supply and water deficiency. Moreover, a phylogenetic analysis, that was conducted in the study, has shown that the *StLBD2-6* gene close to the *Arabidopsis thaliana AtLBD37, AtLBD38, AtLBD39* genes, which are associated with inhibition of anthocyanin synthesis in response to a lack of nitrogen. Real-time PCR showed a change in the level of *StLBD2-6* gene expression in the potato stem with a lack of water. In this regard, it can be assumed that the *StLBD2-6* gene in potatoes can be associated with the regulation of both water and nitrogen metabolism.

In order to find out, the construction was created for overexpression of the *StLBD2-6* gene based on the pMDC32 vector and potato transformation was carried out.

## НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ЯГОДНЫХ КУЛЬТУР В БИОРЕСУРСНОЙ КОЛЛЕКЦИИ

Сорокопудов В. Н. , Сорокопудова О. А.

ФГБНУ Всероссийский научно - исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (ФГБНУ ВИЛАР)  
[sorokopud2301@mail.ru](mailto:sorokopud2301@mail.ru)

Одним из давно признанных антиоксидантов является аскорбиновая кислота, которая обладает многогранной биологической активностью: стимулирует деятельность желез внутренней секреции, кроветворение, усиливает адаптационные возможности организма, сопротивляемость к неблагоприятным воздействиям внешней среды. Механизм положительного действия аскорбиновой кислоты объясняется его способностью улучшать показатели иммунитета, повышать функциональную активность надпочечников, являющихся одним из важных звеньев защиты организма от стрессовых воздействий.

Антиканцерогенная активность витамина С реализуется несколькими механизмами: как сильный антиоксидант, он защищает наследственный аппарат клетки от воздействия генотоксических свободных радикалов; угнетает химический канцерогенез, индуцированный полициклическими ароматическими углеводородами; снижает патологические сдвиги при ультрафиолетовом облучении солнца и высоких дозах ионизирующего облучения; стимулирует активность Т-клеточного иммунитета; предотвращает образование нитрозаминов внутри организма; восстанавливает антиоксидантную активность витамина Е, а также обладает антимуtagenной активностью.

В научных лабораториях мира постоянно проводятся исследования по выявлению наиболее богатых антиоксидантами ягодных культур. В 2002 году норвежскими исследователями определено общее содержание антиоксидантов в самых распространенных растительных пищевых продуктах. Общее содержание они определяли методом FRAP (ferric reducing/antioxidant power – восстановление Fe<sup>3+</sup> до Fe<sup>2+</sup>), что позволяет выявить прямое определение низкомолекулярных антиоксидантов. Содержание этих жизненно важных веществ в продуктах различалось более чем в 1000 раз, а лидерами среди культивируемых растений оказались шиповник, черная и красная смородины.

Плоды составляют важнейший источник антиоксидантов типа аскорбиновой кислоты, токоферолов, каротиноидов, флавоноидов и фенольных кислот. Было определено, что самыми мощными антиоксидантами являются ягоды водяники черной (*Empetrum nigrum* L.), морошки (*Rubus chamaemorus* L.), черники (*Vaccinium uliginosum* L.), брусники обыкновенной (*Vaccinium vitis-idaea* L.), клюквы (*Vaccinium oxycoccos* (Hill) A. (Gray) и плоды аронии (*Aronia melanocarpa* L.) и рябины (*Sorbus aucuparia* L.). В то время как по мнению некоторых авторов культивируемые ягоды земляники (*Fragaria x ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier), красной смородины (*Ribes rubrum* L.), черной смородины (*Ribes nigrum* L.) и малины (*Rubus idaeus* L.) проявили более низкую антиоксидантную активность.

В наших исследованиях с 1990 по 2023 годы установлено, что ягоды смородины черной в свежем и в переработанном виде являются богатым источником витаминов, особенно аскорбиновой кислоты и Р – активных веществ. Также отмечено ранее, что в них содержится провитамин А (каротин), витамин В (тиамин), Р (цитрин), РР (никотиновая кислота), В<sub>9</sub> (фолиевая кислота), В<sub>6</sub> (пиридоксин). Установлено, что смородина черная выгодно отличается от остальных ягодных культур не только биохимическим составом ягод, но и высокой урожайностью, зимостойкостью и широким ассортиментом сортов, выведенных в различные годы отечественными и зарубежными селекционерами. Большое разнообразие по химическому составу ягод большинства сортов смородины черной свидетельствует о высоких потенциальных возможностях культуры.

Исследования проводятся с использованием биобъектов Уникальной научной установки «Биоколлекции ФГБНУ ВИЛАР». Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации по теме № FGUU-2022-0014 «Формирование, сохранение и изучение биоколлекций генофонда различного направления с целью сохранения биоразнообразия и использования их в технологиях здоровьесбережения».

## SOME ASPECTS OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF BERRY CROPS IN THE BIORESOURCE COLLECTION

Sorokopudov V. N. , Sorokopudova O. A.

*All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants*  
[sorokopud2301@mail.ru](mailto:sorokopud2301@mail.ru)

One of the long-recognized antioxidants is ascorbic acid, which has a multifaceted biological activity: it stimulates the activity of endocrine glands, hematopoiesis, enhances the adaptive capacity of the body, resistance to adverse environmental influences. The mechanism of the positive effect of ascorbic acid is explained by its ability to improve immunity, increase the functional activity of the adrenal glands, which are one of the important links in the body's defense against stress. The anticarcinogenic activity of vitamin C is realized by several mechanisms: as a strong antioxidant, it protects the hereditary apparatus of the cell from the effects of genotoxic free radicals; inhibits chemical carcinogenesis induced by polycyclic aromatic hydrocarbons; reduces pathological shifts during ultraviolet irradiation of the sun and high doses of ionizing radiation; stimulates the activity of T-cell immunity; prevents the formation of nitrosamines in the body; restores the antioxidant activity of vitamin E, and also has angiogenetic activity. Research is constantly being conducted in scientific laboratories around the world to identify the berry crops richest in antioxidants. In 2002, Norwegian researchers determined the total antioxidant content in the most common plant foods. They determined the total content using the FRAP (ferric reducing/antioxidant power – reduction of Fe<sup>3+</sup> to Fe<sup>2+</sup>) method, which allows direct determination of low-molecular antioxidants. The content of these vital substances in the products varied by more than 1000 times, and the leaders were rose hips, black and red currants. Berries are the most important source of antioxidants such as ascorbic acid, tocopherols, carotenoids, flavonoids and phenolic acids. The most powerful antioxidants were found to be crowberry (*Empetrum nigrum*), cloudberry (*Rubus chamaemorus*), bilberry (*Vaccinium uliginosum*), lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea*), chokeberry (*Aronia melanocarpa*), cranberry (*Vaccinium oxycoccus*) and rowan (*Sorbus aucuparia*), all wild berries, while the cultivated berries of strawberry (*Fragaria ananassa*), red currant (*Ribes rubrum*), black currant (*Ribes nigrum*) and raspberry (*Rubus idaeus*) showed lower antioxidant activity.

Our studies from 1990 to 2023 found that black currant berries in fresh and processed form are a rich source of vitamins, especially ascorbic acid and P-active substances. They also contain provitamin A (carotene), vitamin B (thiamine), P (citric), PP (nicotinic acid), B<sub>9</sub> (folic acid), B<sub>6</sub> (pyridoxine).

It has been established that blackcurrant compares favorably with other berry crops not only in the biochemical composition of berries, but also in high yield, winter hardiness and a wide range of varieties bred in different years by domestic and foreign breeders. A large variety of berries in chemical composition of most varieties of blackcurrant indicates the high potential of the crop.

The studies are carried out using bioobjects of the Unique Scientific Facility "Biocollections of FGBNU VILAR". The work was carried out within the framework of the state assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation on topic No. FGUU-2022-0014 "Formation, preservation and study of biocollections of the gene pool of various directions in order to preserve biodiversity and use them in health-preserving technologies."

SAMBUCUS NIGRA L. – **НОВАЯ КУЛЬТУРА ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ В РОССИИ****Сорокопудов В. Н. , Быструшкин А. Г.**

*ФГБНУ Всероссийский научно - исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (ФГБНУ ВИЛАР)*  
*[sorokopud2301@mail.ru](mailto:sorokopud2301@mail.ru)*

Бузина чёрная семейства Калиновые (*Viburnaceae*) (ранее этот род включали в семейство Жимолостные (*Caprifoliaceae*), Адоксовые (*Adoxaceae*) или выделяли в отдельное семейство Бузиновые (*Sambucaceae*) — кустарник или деревце высотой 2—6 м. Бузина привлекает внимание к себе благодаря высокому содержанию БАВ. В разных частях растения содержатся биологически активные вещества: в цветках — гликозиды (самбунигрин, расщепляющийся на синильную кислоту, бензальдегид и глюкозу, полутвёрдое эфирное масло (0,27—0,32 %, существенной частью его являются терпены), холин, рутин; алкалоид сангвинарин; каротин; кислоты: аскорбиновая (82 мг%), уксусная, яблочная, хлорогеновая, кофейная, валериановая и др.; дубильные вещества, слизи, пентозаны, смолы, минеральные соли; в плодах содержатся антоцианы, аскорбиновая кислота (10—49 мг%), каротин, рутин, самбуцин, хризантемин, дубильные вещества (0,29—0,34 %), карбоновые кислоты и аминокислоты (тирозин), сахара, следы эфирных масел; в семенах — жирное масло и самбунигрин; в листьях: в сухом сырье — самбунигрин (0,11 %), смолы, обладающие слабительными свойствами, небольшое количество эфирного масла. В свежих листьях имеется аскорбиновая кислота 200—280 мг%, каротин; в корнях — сапонины, дубильные и горькие вещества, - в коре — эфирное масло, холин, метиловый эфир урсоловой кислоты, бетулин,  $\alpha$ -амирин, цериловый спирт, холин, фитостерины, сахара, органические кислоты, пектиновые и дубильные вещества.

За рубежом ведется селекционная работа с данной культурой, созданы сорта «Хашберг», «Сампо» и «Самакко». В Республике Беларуси выведены два сорта бузины черной — «Багацце» и «Кладзезь». Селекция бузины черной в России начата только в Ботаническом саду ФГБНУ ВИЛАР. В 2022-24 годах отмечено, что вегетация у бузины черной начинается довольно рано в начале апреля, но цветение в конце мая, когда практически минуют возвратные заморозки. Начало созревания отмечается в первой декаде августа и к концу августа-началу сентября происходит практически полное созревание плодов. Выделены урожайные формы Б5, ДД1 и ДД2 с крупными плодами и высокой продуктивностью до 35 кг с куста.

Установлено, что в условиях Московской области у исследованных образцов бузины черной отмечено полное прохождение всех фенологических фаз за вегетационный период. Сезонный ритм их развития определяются биологическими особенностями и метеоусловиями конкретного года. Полученные данные по предварительной хозяйственно – биологической оценке форм бузины в условиях Ботанического сада показывают широкие перспективы данного вида в различных сферах использования. В перспективе они станут основой для селекции данного вида в России.

Исследования проводятся с использованием биобъектов Уникальной научной установки «Биоколлекции ФГБНУ ВИЛАР». Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации по теме № FGUU-2022-0014 «Формирование, сохранение и изучение биоколлекций генофонда различного направления с целью сохранения биоразнообразия и использования их в технологиях здоровьесбережения».

## SAMBUCUS NIGRA L. – A NEW CROP FOR BREEDING IN RUSSIA

Sorokopudov V. N. , Bystrushkin A. G.

*All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants*  
[sorokopud2301@mail.ru](mailto:sorokopud2301@mail.ru)

Black elderberry of the Viburnaceae family (previously this genus was included in the Caprifoliaceae family, Adoxaceae family, or was separated into a separate Sambucaceae family) is a shrub or small tree 2-6 m high. Elderberry attracts attention due to its high content of biologically active substances. Biologically active substances are contained in different parts of the plant: flowers contain glycosides (sambunigrin, which breaks down into hydrocyanic acid, benzaldehyde and glucose, semi-solid essential oil (0.27-0.32%), a significant part of which are terpenes), choline, rutin; alkaloids coniine and sanguinarine; carotene; acids: ascorbic (82 mg%), acetic, malic, chlorogenic, coffee, valerianic, etc.; tannins, mucus, pentosans, resins, mineral salts; the fruits contain anthocyanins, ascorbic acid (10-49 mg%), carotene, rutin, sambucin, chrysanthemin, tannins (0.29-0.34%), carboxylic acids and amino acids (tyrosine), sugars, traces of essential oils; the seeds contain fatty oil and sambunigrin; in the leaves: in dry raw materials - sambunigrin (0.11%), resins with laxative properties, a small amount of essential oil. Fresh leaves contain ascorbic acid 200-280 mg%, carotene; in the roots - saponins, tannins and bitter substances, - in the bark - essential oil, choline, triterpene compounds, methyl ester of ursolic acid, betulin,  $\alpha$ -amyrin,  $\beta$ -sitosterol, ceryl alcohol, choline, phytosterols, sugars, organic acids, pectin and tannins.

Breeding work with this crop is carried out abroad, the varieties "Hashberg", "Sampo" and "Samakko" have been created. In Belarus, two varieties of black elderberry have been bred - "Bagatse" and "Kladzez". Breeding of black elderberry in Russia has begun only in the Botanical Garden of the Federal State Budgetary Scientific Institution VILAR. In 2022-24, it was noted that the vegetation of black elderberry begins quite early in early April, but flowering begins at the end of May, when return frosts have practically passed. The beginning of ripening is noted in the first ten days of August and by the end of August - beginning of September the fruits are fully ripened. The productive forms B5, DD1 and DD2 with large fruits and high productivity up to 35 kg per bush have been identified.

It has been established that in the conditions of the Moscow region, the studied samples of black elderberry have a full passage of all phenological phases during the growing season. The seasonal rhythm of their development is determined by the biological characteristics and meteorological conditions of a particular year. The most productive (up to 35 kg / bush) forms of black elderberry B5, DD1 and DD2 have been identified, which will become the basis for breeding this species in Russia. The obtained data on the preliminary economic and biological assessment of elderberry forms in the conditions of the Botanical Garden show broad prospects for this species in various areas of use.

The studies are carried out using bioobjects of the Unique Scientific Installation "Biocollection of the FGBNU VILAR". The work was carried out within the framework of the state assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation on topic No. FGUU-2022-0014 "Formation, preservation and study of biocollections of the gene pool of various directions in order to preserve biodiversity and use them in health-preserving technologies."

## ПАСПОРТИЗАЦИЯ АМПЕЛОГРАФИЧЕСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ «МАГАРАЧ» И ВНЕДРЕНИЕ ГЕНОМНЫХ ПОДХОДОВ В СЕЛЕКЦИЮ ВИНОГРАДА

Спотарь Г. Ю.<sup>1</sup>, Спотарь Е. Н.<sup>1</sup>, Мироненко А. А.<sup>1</sup>, Коновалова Н. В.<sup>2</sup>, Лиховской В. В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУН "Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия «Магарач» РАН"

<sup>2</sup> ФГБНУ «ВНИИСБ»  
[probud@mail.ru](mailto:probud@mail.ru)

Точная идентификация сортовой принадлежности форм винограда незаменима в ампелографических коллекциях для уточнения и расширения их сортимента, в селекционных программах и питомниководстве. Надежным методом идентификации сортов является генотипирование с помощью ДНК-маркеров, что позволяет достоверно и сравнительно быстро определить сортовую принадлежность образцов. Также в настоящее время актуальной является задача удешевления и оптимизации селекционных программ с помощью внедрения и усовершенствования методов Маркер ассоциированной селекции (МАС) для получения новых сортов, обладающих требуемыми хозяйственно-ценными качествами и устойчивостью к климатическим условиям и патогенам, что обеспечит продовольственную безопасность РФ.

В ФГБУН «ВНИИВиВ «Магарач» РАН» ведется интенсивная работа по подтверждению сортовой принадлежности образцов винограда и паспортизации сортов Ампелографической коллекции (АК) «Магарач» с помощью генотипирования по стандартному набору из 9 ядерных и 3 хлоропластных SSR-маркеров. В первую очередь исследуются недостаточно изученные среднеазиатские и восточноевропейские сорта, включая аборигенные сорта Крыма и других регионов юга РФ, сорта селекции ФГБУН «ВНИИВиВ «Магарач» РАН», а также неустановленные формы АК «Магарач».

По результатам генотипирования получено Свидетельство №2024622920 от 3.07.2024г. о государственной регистрации базы данных «База молекулярно-генетических паспортов (генотипов) бессемянных сортов АК «Магарач». Из 44 генотипов сортов, содержащихся в базе, 23 отсутствуют в международном каталоге сортов винограда VIVC, большинство из них получены впервые. Подготовлена к регистрации «База хлоротипов бессемянных сортов АК «Магарач» по 50 сортам, из них по 44 сортам хлоротипы определены впервые.

В селекционную программу получения бессемянных сортов ФГБУН «ВНИИВиВ «Магарач» РАН были внедрены методы МАС с использованием маркеров r3\_VvAGL11 и VMC7F2. По результатам генотипирования 3-х опытных популяций и оценки хозяйственно-ценных качеств выделена перспективная бессемянная гибридная форма 32-11-5-1 (Подарок Запорожью х Аленушка), на которую принята заявка ФГБУ «Госсорткомиссия» для выдачи патента на бессемянный сорт «Партенитский» (уведомление о приеме заявки №91565 / 7553377 от 31.05.2024г.). Для определения надежности маркеров МАС на бессемянность проведено их тестирование на широком генофонде сортов и форм (110шт.) различного происхождения. Маркеры МАС VMC7F2 и r3\_VvAGL11 при отсутствии ложноотрицательных результатов показали 12,9% и 1,6% ложноположительных результатов соответственно.

С целью усовершенствования метода идентификации бессемянных форм, на основе биоинформатического анализа результатов полногеномного секвенирования NGS была изучена последовательность локуса гена VvAGL11 у 11 местных бессемянных сортов и подтверждена роль SNP 26,889,437 (A/C) экзона 7 гена VvAGL11 chr 18 в формировании стenosпермокарпической бессемянности. Для детекции SNP 26,889,437 (A/C) разработана тест-система на основе аллель специфичных зондов для ПЦР в реальном времени, которая исключает получение ложных результатов, и при апробации показала полную эффективность и надежность при тестировании на семенных, бессемянных сортах и гибридных формах.

*Ключевые слова:* виноград, генотипирование, SSR-маркеры, маркер-ассоциированная селекция, VvAGL11, тест-система.

## CERTIFICATION OF THE MAGARACH AMPELOGRAPHIC COLLECTION AND INTRODUCTION OF GENOMIC APPROACHES TO GRAPE BREEDING

Spotar` G. Y. <sup>1</sup>, Spotar` E. N. <sup>1</sup>, Mironenko A. A. <sup>1</sup>, Konovalova N. V. <sup>2</sup>, Likhovskoi V. V. <sup>1</sup>

<sup>1</sup>All-Russian National Research Institute of Viticulture and Winemaking Magarach of the RAS

<sup>2</sup>All-Russian R I A B

[probud@mail.ru](mailto:probud@mail.ru)

Perfect identification of varietal affiliation of grape forms is essential in ampelographic collections for refining and expanding their assortment in breeding programs and nursery practices. A reliable method to identify varieties is genotyping with the use of DNA-markers, which allows a reliable and relatively quick determination of varietal affiliation of samples. Also, it is currently relevant to reduce the cost and optimize breeding programs by introducing and improving the methods of marker assisted selection (MAS), in order to obtain new varieties with the required economically valuable traits and resistant to climatic conditions and pathogens, ensuring food security of the Russian Federation.

Intensive work is in progress at the FSBSI Institute Magarach of the RAS to confirm varietal affiliation of grape samples, and to certify the varieties of the Ampelographic Collection (AC) Magarach, using genotyping with a standard set of 9 nuclear and 3 chloroplast SSR- markers. The understudied Central Asian and Eastern European varieties, including aboriginal varieties of Crimea and other regions of South Russia, the varieties of the FSBSI Institute Magarach of the RAS breeding, as well as unidentified forms of AC Magarach are under research at first instance.

Certificate No. 2024622920 dated 3.07.2024 on the state registration of the "Database of molecular genetic certificates (genotypes) of seedless varieties of AC Magarach" was issued based on the results of genotyping. Among 44 genotypes of varieties available in the database, 23 are not included in the international catalog of grape varieties VIVC, most of them are obtained for the first time. The "Database of chlorotypes of AC Magarach seedless varieties" for 50 varieties is ready for registration, chlorotypes for 44 of them are determined for the first time.

MAS methods using p3\_VvAGL11 and VMC7F2 markers were introduced into breeding program of seedless varieties carried out by the FSBSI Institute Magarach of the RAS. Based on the results of genotyping of three experimental populations and assessing of economically valuable traits, a promising seedless hybrid form 32-11-5-1 ('Podarok Zaporozhyu' x 'Alyonushka') was obtained, with an application passed to the FSBI State Commission for Variety Testing to issue a patent for seedless variety 'Partenitskiy' (notification of application No. 91565 / 7553377 dated 31.05.2024).

To determine the reliability for seedlessness, MAS markers were tested using wide ranging gene pool of varieties and forms of different origin (110pcs). In the absence of false-negative results, MAS markers VMC7F2 and p3\_VvAGL11 showed 12.9% and 1.6% of false-positive results, respectively.

In order to improve the method for identifying seedless forms, the sequence of VvAGL11 gene locus in 11 local seedless varieties was studied based on bioinformatic analysis of the results of genome-wide NGS sequencing, and the role of SNP 26,889,437 (A/C) of exon 7 of VvAGL11 chr 18 gene in the formation of stenospermocarpic seedlessness was confirmed. To detect SNP 26,889,437 (A/C), a test system based on allele-specific probes for real-time PCR, which eliminates false results, was developed, and during practical approval showed an overall effectiveness and reliability when tested on grapes with seeds, seedless varieties and hybrid forms.

**Keywords:** grapes, genotyping, SSR-markers, marker assisted selection, VvAGL11, test-system.



## ИЗУЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ ХЛОРОПЛАСТНЫЕ БЕЛКИ В ТКАНЯХ ФОРМИРУЮЩИХСЯ ПЛОДОВ ГОРОХА (*PISUM SATIVUM* L.) В СВЯЗИ С ИХ ФОТОХИМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Степанова Н. В.<sup>1</sup>, Жилкина Т. А.<sup>1</sup>, Камионская А. М.<sup>1</sup>, Смоликова Г. Н.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский Государственный университет

[Stepanovanataliia.v@yandex.ru](mailto:Stepanovanataliia.v@yandex.ru)

Стремительное изменение климата приводит к тому, что все более приоритетной задачей в мире становится обеспечение продовольственной безопасности, в том числе путем повышения урожайности сельскохозяйственных растений. Хорошо известно, что способность растений производить биомассу, необходимую для питания человека и животных, зависит от эффективности фотосинтетических реакций, которые, в свою очередь, зависят от эффективности улавливания света и фиксации углерода. Однако большинство фотосинтетических исследований проводится на листьях, в то время как другие зеленые органы растений также являются потенциальным источником дополнительного усвоения углерода за счет фотосинтеза. Объектом исследования являлись плоды растений гороха сорта Глория на средней стадии созревания семян.

Ранее нами было показано, что формирующиеся семена гороха содержат хлорофиллы, каротиноиды и фотохимически активные пластиды с развитыми тилакоидными мембранами (doi 10.1071/FP19270). «Эмбриональный» фотосинтез, происходящий в зеленых зародышках, позволяет им вырабатывать дополнительное количество АТФ и НАДФН, которые далее используются при синтезе запасных питательных веществ (doi 10.1134/S1021443715060163). При этом из-за того, что зародыши в плодах экранированы от солнечного света тканями перикарпия и семенной кожуры, они осуществляют фотохимические реакции в отсутствие синего света, низком уровне красного света и сравнительно высоком уровне зеленого и дальнего красного света (doi 10.18699/VJGB-23-113). Такие условия приводят к структурно-функциональной адаптации фотосинтетического аппарата. Так, например, методом РАМ-флуориметрии с использованием PAR-FluorPen FP 110 (PSI, Чехия) нами было установлено, что семядоли, по сравнению с листьями и тканями перикарпия, имеют более высокий показатель ABS/RC, где ABS – поток фотонов, поглощаемых пигментами свето-собирающих комплексов (ССК), и RC – реакционный центр.

Нами была изучена экспрессия генов, кодирующих белки D1 и D2 фотосистемы II (*PsbA* и *PsbD*), белки A1 и A2 фотосистемы I (*PsaA* и *PsaB*), белок цитохром *f* комплекса цитохромов *b6/f* (*PetA*), белки-шаперонины *Cpn60α* and *Cpn60β*, а также ферменты активизации рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы/оксигеназы (*Rca*) и фосфорibuлокиназа (*Prk*). Все вышеуказанные гены экспрессировались в тканях листьев, перикарпия, кожуры и семядолей гороха, однако уровень их экспрессии снижался в нелистовых тканях в зависимости от интенсивности и спектрального состава света, при которых осуществлялись фотохимические реакции. В докладе будут обсуждаться особенности функционирования фотосинтетического аппарата в плодах гороха.

Работа выполнена при поддержке НИЦМУ «Агротехнологии будущего» (соглашение № 075-15-2022-318 от 20.04.2022) на базе ЭУИК (регистрационный номер УНУ U-73547).

**Ключевые слова:** *Pisum sativum* L., семена, плоды, фотосинтез, РАМ-флуориметрия, экспрессия генов.

## STUDY OF THE EXPRESSION OF GENES ENCODING CHLOROPLAST PROTEINS IN THE TISSUES OF DEVELOPING PEA (*PISUM SATIVUM* L.) PODS IN RELATION TO THEIR PHOTOCHEMICAL ACTIVITY

Stepanova N. V.<sup>1</sup>, Zhilkina T. A.<sup>1</sup>, Kamionskaya A. M.<sup>1</sup>, Smolikova G. N.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Federal State Institution «Federal Research Centre «Fundamentals of Biotechnology» of the Russian Academy of Sciences»

<sup>2</sup> St. Petersburg State University

[Stepanovanatalia.v@yandex.ru](mailto:Stepanovanatalia.v@yandex.ru)

As a result of rapid climate change, ensuring global food security, including by increasing crop yields, is becoming an increasingly important priority. It is well known that the ability of plants to produce biomass necessary for human and animal nutrition depends on the efficiency of photosynthetic reactions, which, in turn, depend on the efficiency of light capture and carbon fixation. However, most photosynthetic studies have been conducted on leaves, while other green plant organs are also a potential source of additional carbon uptake through photosynthesis. In this study, leaves and pods of pea plants of the variety Gloria at the middle stage of seed maturation were investigated.

We have previously shown that the developing pea seeds contain chlorophylls, carotenoids and photochemically active plastids with thylakoid membranes (doi:10.1071/FP19270). The "embryonic" photosynthesis occurring in green embryos allows them to produce additional amounts of ATP and NADPH, which are further used for the synthesis of reserve nutrients (doi: 10.1134/S1021443715060163). At the same time, because the embryos in the pods are shielded from sunlight by the tissues of the pericarp and seed coat, they carry out photochemical reactions in the absence of blue light, with low levels of red light and a relatively high levels of green and far-red light (doi: 10.18699/VJGB-23-113). Such conditions lead to the structural and functional adaptation of the photosynthetic apparatus. Using the method of PAM fluorometry with the PAR-FluorPen FP 110 (PSI, Czech Republic), it was found that cotyledons have a higher ABS/RC index compared to leaves, where ABS is the flux of photons absorbed by pigments of light harvesting complexes (LHC) and RC is the reaction center.

We examined the expression of genes encoding the proteins D1 and D2 of photosystem II (*psbA* and *psbD*), the proteins A1 and A2 of photosystem I (*PsaA* and *PsaB*), the cytochrome *f* protein of the cytochrome *b6/f* complex (*PetA*), the chaperonin proteins *Cpn60α* and *Cpn60β*, and the enzymes of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase activase/oxygenase (*Rca*) and phosphoribulokinase (*Prk*). All the above-mentioned genes were expressed in the tissues of leaves, pericarps, seed coats, and cotyledons of pea plants. However, their expression decreased in the non-foliar tissues depending on the intensity and spectral composition of the light under which the photochemical reactions were carried out. The peculiarities of the functioning of the photosynthetic apparatus in pea pods are discussed.

**Keywords:** *Pisum sativum* L., seeds, pods, non-foliar photosynthesis, PAM fluorometry, gene expression.

## ОСОБЕННОСТИ МИКРОКЛОНАЛЬНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ ВЗРОСЛЫХ ДЕРЕВЬЕВ ЯСЕНЯ ОБЫКНОВЕННОГО

Усачева Р. В.

ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии»  
[Rima.usa@yandex.ru](mailto:Rima.usa@yandex.ru)

Из литературы известно, что для введения в культуру *in vitro* ясеня обыкновенного (*Fraxinus excelsior*), рекомендуется использовать молодые порослевые побеги. Но часто целью является сохранения генотипа определенных деревьев, не всегда молодого возраста. Поэтому целью работы является изучение условий и особенностей введения в культуру *in vitro* побегов, взятых с взрослых ясеней, и сравнительный анализ таких показателей, как регенерация побегов и длина междоузлий у регенерантов молодых и взрослых деревьев.

Верхушечные побеги с молодых порослевых деревьев и взрослых ясеней вводили в культуральную среду на минеральной основе Мурасиге и Скуга (MS) и WPM (Woody Plant Medium), рост стимулировали БАП (6- бензиламинопурином) и ИМК (индолил-масляной кислотой).

Лучшие результаты регенерации эксплантов были получены на среде MS с добавлением БАП в концентрации 4,0 мг/л и ИМК с концентрацией 0,1 мг/л. Здесь коэффициент размножения был 4,8 у побегов с молодых деревьев и 2,9 - у побегов с взрослых. Длина междоузлий составила 7,5 и 6,5 – соответственно. Добавление ИМК в среду MS, существенно повлияло на длину междоузлий. Но лучшие результаты по такому показателю, как длина междоузлий, показала среда WPM с добавлением БАП в концентрации 4 мг/л и ИМК - 0,1 мг/л. Здесь длина междоузлий составила 10,2 и 9,6 мм соответственно, у побегов с молодых порослевых деревьев и взрослых.

Таким образом, для микроклонального размножения взрослых деревьев ясеня обыкновенного рекомендуется:

1. При первичном введении эксплантов ясеня в культуру, для инициации побегообразования, использовать питательную среду на MS-основе с добавлением БАП и ауксинов.

2. Для более эффективного раскрытия морфогенетического потенциала эксплантов взрослых деревьев ясеня, производить пересадку регенерантов через 3–4 недели на среду WPM с добавлением БАП и ИМК.

*Ключевые слова:* микроклонирование, *Fraxinus excelsior*, *in vitro*, морфогенез, регенеранты.

## FEATURES OF MICROCLONAL REPRODUCTION OF ADULT COMMON ASH TREES

Usacheva R. V.

*FSBI "All-Russian Research Institute of Forest Genetics, Selection and Biotechnology"*  
*[Rima.usa@yandex.ru](mailto:Rima.usa@yandex.ru)*

It is known from the literature that for introducing common ash (*Fraxinus excelsior*) into in vitro culture, it is recommended to use young shoots. But often the goal is to preserve the genotype of certain trees, not always young ones. Therefore, the purpose of the work is to study the conditions and characteristics of the introduction into in vitro culture of shoots taken from adult ash trees, and a comparative analysis of indicators such as shoot regeneration and the length of internodes in regenerated young and adult trees.

Apical shoots from young coppice trees and mature ash trees were introduced into a culture medium based on the mineral Murashige and Skoog (MS) and WPM, growth was stimulated by BAP (6-benzylaminopurine) and IBA (indolyl butyric acid).

The best results of explant regeneration were obtained on MS medium with the addition of BAP at a concentration of 4.0 mg/l and IBA at a concentration of 0.1 mg/l. Here, the reproduction coefficient was 4.8 for shoots from young trees and 2.9 for shoots from mature trees. The length of the internodes was 7.5 and 6.5, respectively. The addition of IBA to MS medium significantly affected the length of internodes. But the best results in terms of the length of internodes were shown by WPM medium with the addition of BAP at a concentration of 4 mg/l and IBA - 0.1 mg/l. Here, the length of internodes was 10.2 and 9.6 mm, respectively, in shoots from young coppice trees and adults.

That. For microclonal propagation of adult common ash trees, it is recommended:

1. When introducing ash explants into the culture for the first time, to initiate shoot formation, use a nutrient medium based on MS with the addition of BAP and auxins.
2. To more effectively reveal the morphogenetic potential of explants of adult ash trees, transplant the regenerants after 3 - 4 weeks onto WPM medium with the addition of BAP and IBA.

*Keywords:* microcloning, *Fraxinus excelsior*, in vitro, morphogenesis, regenerants.

## ГЕНОФОНД СУБТРОПИЧЕСКИХ ПЛОДОВЫХ КУЛЬТУР В УСЛОВИЯХ ГОРНОГО БАДАХШАНА ТАДЖИКИСТАНА

Фелалиев А. С., Махрамов А. М., Бахронов Н. А.

Памирский биологический институт им. академика Х.Ю. Юсуфбекова НАНТ  
[felaliev@mail.ru](mailto:felaliev@mail.ru)

В условиях Горно-Бадахшанской автономной области (ГБАО) Таджикистана из субтропических разноплодных плодовых пород произрастают шелковица, гранат, инжир и хурма, как в диком состоянии (за исключением шелковицы), так и в культуре. Следует отметить, что кроме шелковицы другие субтропические разноплодные плодовые породы имеют здесь ограниченный ареал. Их ареал находится в пределах от 1100 до 1800 м над уровнем моря, т.е. они произрастают и плодоносят только в Дарвазском субтропическом районе (ГБАО), тогда как ареал шелковицы в отдельных случаях доходит до 2900 м над уровнем моря. Кроме того, шелковица имеет здесь большее народно-хозяйственное значение, чем инжир, гранат и хурма и в качестве пищевого продукта жители ГБАО шелковицу считают «вторым хлебом». Изучение генофонда, морфобиологических характеристик и полиморфизма шелковицы показывают, что в условиях Горного-Бадахшана произрастают два вида шелковицы - шелковица белая (*Morus alba* L.) и черная шелковица (*Morus nigra* L.). Белая шелковица здесь обладает большим полиморфизмом. Нами выявлены и описаны 61 формы этой культуры.

Род *Ficus* L. из семейства *Moraceae* Lindl., согласно литературным данным, объединяет более 100 видов. В Таджикистане дикорастущий инжир – *F. Carica* L. при всей своей полиморфности отличается по сравнению с инжиром Копет-Дагаменьшим разнообразием плодов и листьев. В Дарвазском субтропическом районе произрастают 15 сортов и форм инжира. В естественных условиях инжир растет обычно в виде невысоких кустообразных деревьев, образующих куртины 20 – 50 м в диаметре. Редко встречаются деревья высотой 4-6 м. Соплодия инжира заслуженно считаются любимейшим лакомством и диетическим продуктом народов многих стран. Основной составной их частью являются глюкоза и фруктоза при очень низкой кислотности. Из органических кислот содержатся лимонная, яблочная, уксусная. Будучи засухоустойчивым растением, инжир может иметь большое значение в мелиорации, его корневые системы прекрасно укрепляют почву на крутых склонах, предотвращая ее от разрушения. В Таджикистане возделывание инжира за счет культурных сортов и форм имеет очень большие перспективы.

Род *Punica* L. из семейства *Punicaceae* представлен только двумя видами, из которых один – *P. protopunica* Ralf - эндемичен для острова Сокотра, а другой – *P. granatum* L. обитает в диком состоянии Передней Азии, Средней Азии (Копет-Даг, Памиро-Алай), Закавказье, Малой Азии, Иране и Афганистане. На территории Таджикистана этот вид сосредоточен в трех очагах, в том числе и в Дарвазском субтропическом районе. В Памирском биологическом институте НАНТ испытаны более 20 сортов и форм граната вида *P. granatum* L. Гранат - кустарник, не превышающий 1.5 – 3.5 м высоты. Плоды как дикорастущего, так и культурного граната, в ГБАО разнообразны. Преобладают округлые, несколько приплюснутые у вершины, гладкие, зелено-желтые, оранжево – желтые или красные. Мякоть розовая, кислая, очень редко кисло-сладкая (у дикорастущих форм), сладкая и очень сладкая (у культурных сортов и форм).

Род *Diospyrus* L. из семейства *Ebenaceae* Juss., объединяет около 190 древесных видов. В коллекционных садах Института произрастают 9 сортов хурмы. Плоды хурмы созревают поздней осенью, в октябре-ноябре. Деревья плодоносят до глубокой старости. Плоды хурмы охотно используются местным населением в свежем и сухом виде, они содержат много сахаров и богаты витаминами.

**Ключевые слова:** Таджикистан, Горно-Бадахшанская автономная область (ГБАО), субтропические плодовые породы, шелковица, инжир, гранат, хурма.

## GENE POOL OF SUBTROPICAL FRUIT CROPS IN THE CONDITIONS OF GORNO-BADAKHSHAN OF TAJIKISTAN

Felaliev A. , Makhramov A. M. , Bahronov N. A.

*Pamir Biological Institute named after. Academician H.Yu. Yusufbekov of the National Academy of Sciences of Tajikistan*  
[felaliev@mail.ru](mailto:felaliev@mail.ru)

In Gorno-Badakhshan Autonomous Region (GBAO) of Tajikistan, conditions of the subtropical heterogeneous fruit species grow mulberry, pomegranate, fig and persimmon, both in the wild (with the exception of mulberry) and in cultivation. It should be noted that, in addition to mulberries, other subtropical multi-fruited fruit species have a limited range here. Their habitat ranges from 1100 to 1800 m above sea level; they grow and bear fruit only in the Darvaz subtropical region (GBAO), while the mulberry habitat in some cases reaches 2900 m above sea level. In addition, mulberries are of greater economic importance here than figs, pomegranates and persimmons, and as a food product, residents of GBAO consider mulberries to be their "second bread." The study of the tenofund, morphobiological characteristics and polymorphism of mulberry shows that in Gorno-Badakhshans conditions there are grow two types of mulberry - white mulberry (*Morus alba* L.) and black mulberry (*Morus nigra* L.). White mulberry here has great polymorphism. We have identified and described 61 forms of this culture.

Genus *Ficus* from the family *Moraceae* Lindl. According to literature data, it unites more than 100 species. In Tajikistan, the wild fig *F. Carica* L., with all its polymorphism, differs in comparison with the Kopet-Dag fig in a smaller variety of fruits and leaves. In the Darvas subtropical region, 15 varieties and forms of figs grow. Under natural conditions, figs usually grow in the form of low bush-like trees, forming clumps 20–50 m in diameter. Trees 4-6 m high are rarely found. Fig fruits are deservedly considered the favorite delicacy and dietary product of the peoples of many countries. Their main components are glucose and fructose with very low acidity. Organic acids include citric, malic, and acetic. Being a drought-resistant plant, figs can be of great importance in land reclamation; its root systems perfectly strengthen the soil on steep slopes, preventing it from destruction. In Tajikistan, the cultivation of figs using cultivated varieties and forms has very great prospects.

The genus *Punica* L. from the family *Punicaceae* is represented by only two species, of which one *P. protopunica* Ralt is endemic to the island of Socotra, and the other *P. granatum*. lives in the wild state of Western Asia. Central Asia (Kopet-Dag Pamir-Alai), Transcaucasia, Malaya Alin. Iran and Afghanistan. On the territory of Tajikistan, this species is concentrated in three foci, including in the Darvaz subtropical region. More than 20 varieties and forms of pomegranate of the species *P. granatum* L. have been tested at the Pamir Biological Institute of NAST. Pomegranate is a shrub not exceeding 1.5 - 3.5 m in height. The fruits of both wild and cultivated pomegranates are varied in GBAO. They are predominantly round, somewhat flattened at the apex, smooth, green-yellow, orange-yellow or red. The pulp is pink, sour, very rarely sweet and sour (in wild forms), sweet and very sweet (in cultivated varieties and forms).

The genus *Diospyrus* L. from the family *Ebenaceae*Juss includes about 190 tree species. Nine varieties of persimmon grow in the collection gardens of the Institute. Persimmon fruits ripen in late autumn, in October-November. The trees bear fruit until a very old age. Persimmon fruits are readily used by the local population in fresh and dry form; they contain a lot of sugars and are rich in vitamins.

**Keywords:** Tajikistan, Gorno-Badakhshan Autonomous Region (GBAO), subtrotic fruit trees, mulberry, fig, pomegranate, persimmon.

## **ЭКСПРЕССИЯ ГРАНУЛОЦИТАРНОГО КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА ЧЕЛОВЕКА В ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЯХ РЯСКИ МАЛОЙ.**

**Фирсов А. П. , Шалойко Л. А. , Долгов С. В.**

*ФГБУН ГНЦ РФ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН*  
*[aleksey\\_firsov@mail.ru](mailto:aleksey_firsov@mail.ru)*

Для производства рекомбинантных белков могут быть использованы различные экспрессионные системы, в том числе, на основе трансгенных растений. В настоящее время такие системы имеют ограниченное использование, в первую очередь по причине опасения неконтролируемого распространения рекомбинантной ДНК в окружающей среде. Эта проблема может быть решена путём разработки замкнутых культивационных систем, исключая её вынос в окружающую среду. Перспективным объектом для разработки экспрессионных платформ с использованием замкнутых культивационных систем на основе биореакторов является ряска малая. Ряска малая, маленькое однодольное водное растение, может культивироваться в фотобиореакторах на дешёвых минеральных средах, характеризуется высокой скоростью роста и высоким содержанием белка.

Растения ряски были трансформированы нуклеотидной последовательностью гранулоцитарного колониестимулирующего фактора человека (GCSF), оптимизированной для экспрессии в однодольных растениях. В результате агробактериальной трансформации вектором pBI-GCSF было получено более 50 независимых канамицинустойчивых линий; интеграция целевого гена ГКСФ в геном растений была подтверждена методом ПЦР. Скрининг полученных линий выявил экспрессию ГКСФ в 48 из них. Накопление рекомбинантного ГКСФ в трансгенных линиях варьировало в широком диапазоне – от 7,0 до более чем 70,0 мкг на 1 г сырой массы ряски. Методом Вестерн блот анализа было показано присутствие в препаратах общего белка из трансгенных растений иммунореактивной полосы с молекулярной массой около 20 кДа, соответствующей ГКСФ. Полученные растения – продуценты нормально росли и по своим морфологическим, и ростовым характеристикам не отличались от нетрансформированных контрольных растений ряски. Таким образом, проведённые эксперименты на примере ГКСФ подтвердили возможность экспрессии в ряске малой рекомбинантных белков терапевтического назначения.

## EXPRESSION OF HUMAN GRANULOCYTE COLONY-STIMULATING FACTOR IN TRANSGENIC DUCKWEED PLANTS.

Firsov A. P. , Shaloyko L. A. , Dolgov S. V.

*Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences*  
*[aleksey\\_firsov@mail.ru](mailto:aleksey_firsov@mail.ru)*

Various expression systems, including on transgenic plants based, can be used to produce recombinant proteins. Currently, such systems have limited use, primarily due to concerns about the uncontrolled spread of recombinant DNA in the environment. This problem can be solved by developing closed cultivation systems that prevent its release into the environment. A promising object for the development of expression platforms using closed cultivation systems based on bioreactors is duckweed. Duckweed, a small monocotyledonous aquatic plant, can be cultivated in photobioreactors on cheap mineral media, it characterized by a fast growth and high protein content.

Duckweed plants were transformed with the nucleotide sequence of human granulocyte colony-stimulating factor (GCSF) optimized for expression in monocots. As a result of *Agrobacterium*-mediated transformation with the pBI-GCSF vector, more than 50 independent kanamycin-resistant lines were obtained; integration of the target GCSF gene into the plant genome was confirmed by PCR. Screening of the obtained lines revealed GCSF expression in 48 of them. Accumulation of recombinant GCSF in transgenic lines varied in a wide range - from 7.0 to more than 70.0 µg per 1 g of wet duckweed weight. Western blot analysis showed in total protein samples from transgenic plants the presence of an immunoreactive band with a molecular weight of about 20 kDa corresponding to GCSF. The obtained producer plants grew normally and did not differ in their morphological and growth characteristics from untransformed control duckweed plants. Thus, the experiments performed using GCSF as an example confirmed the possibility of expressing recombinant therapeutic proteins in duckweed.



## ОЦЕНКА РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЛЮПИНА БЕЛОГО ПОСЛЕ ПРЕДПОСЕВНОГО ГАММА-ОБЛУЧЕНИЯ СЕМЯН

Ханова А. С., Бондаренко Е. В.

ФГБУ "Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии" НИЦ  
"Курчатовский институт"  
[micenyk-anastasi@mail.ru](mailto:micenyk-anastasi@mail.ru)

Для разработки протокола радиационного мутагенеза в отношении отечественных сортов люпина белого, на примере сорта Мичуринский, была проведена серия радиобиологических экспериментов для изучения радиочувствительности проростков после предпосевного гамма-облучения семян и определения оптимальных доз для индукции мутаций.

Семена были облучены в дозах 25, 50, 100, 200, 400, 800 и 1200 Гр на уникальной научной установке ГУР-120 (60Co, ВНИИРАЭ) в 3 повторностях, по 30 семян в каждой. Мощность дозы составила 90 Гр/час.

Высокие дозы гамма-излучения никак не повлияли на показатель всхожести семян люпина белого. Статистически значимое снижение процента всхожести наблюдали только при дозе 100 Гр (94 %) по сравнению с контрольной группой (99 %). Среднее время прорастания семян статистически значимо увеличивалось в группах, подвергшихся воздействию гамма-излучения в диапазоне доз от 200 до 1200 Гр, по сравнению с контролем. Взвешенный процент прорастания семян статистически значимо снижался с увеличением дозы. Так, статистическая значимая разница выявлена при дозе 25 Гр и при дозах в диапазоне от 100 до 1200 Гр. Скорректированный индекс энергии прорастания статистически значимо уменьшался в диапазоне доз от 200 до 1200 Гр по сравнению с растениями в контрольной группе. В группах семян, подвергшихся воздействию гамма-излучения в дозах 100 и 1200 Гр, выявлено статистически значимое увеличение показателя синхронности, означающее нарушение синхронности прорастания семян люпина белого.

Статистически значимое ингибирование длины побегов зафиксировано в дозе 25 Гр и в диапазоне доз от 200 до 1200 Гр. А доза 100 Гр оказала статистически значимый стимулирующий эффект. Что касается длины гипокотыля, то значимое увеличение данного параметра выявлено при дозе 25 Гр, а значимое снижение – в диапазоне доз от 100 до 1200 Гр. Также этот диапазон доз (100-1200 Гр) оказал статистически значимый ингибирующий эффект на длину корня и биомассу проростков.

Корреляционный анализ морфометрических параметров: биомассы проростков, длин побегов, гипокотыля и корня, – показал, что между дозой и измеряемыми параметрами зафиксирована статистически значимая сильная отрицательная корреляция. Наиболее сильная – между дозой и длиной побегов ( $\rho = -0,78$ ;  $p = 4,44e-139$ ). Также между изучаемыми морфометрическими параметрами выявлена сильная положительная корреляция. Наиболее сильная – между длиной побегов и длиной гипокотыля ( $\rho = 0,90$ ;  $p = 1,05e-245$ ).

Также в результате эксперимента выявлены дозы гамма-излучения вызывающие 30 и 50 % уменьшение длины побегов на 11-е сутки для сорта Мичуринский люпина белого: 237 и 410 Гр. LD 30 и 50 на 60-е сутки составила 415 и 695 Гр, соответственно.

*Ключевые слова:* *Lupinus albus*; гамма-излучение; параметры прорастания, RD 50, LD 50

## ASSESSMENT OF RADIATION SENSITIVITY OF WHITE LUPIN AFTER PRE- SOWING GAMMA IRRADIATION OF SEEDS

Khanova A. S. , Bondarenko E. V.

*Russian Institute of Radiology and Agroecology of National Research Centre «Kurchatov Institute»  
[micenyk-anastasi@mail.ru](mailto:micenyk-anastasi@mail.ru)*

To develop a radiation mutagenesis protocol for domestic varieties of white lupin, using the Michurinsky variety as an example, a series of radiobiological experiments were conducted to study the radiation sensitivity of seedlings after pre-sowing gamma irradiation of seeds and determine the optimal doses for mutation induction.

The seeds were irradiated at the NRC «Kurchatov Institute» – RIRAE by the gamma device GUR-120 with  $^{60}\text{Co}$  radiation sources at dose of 25, 50, 100, 200, 400, 800 and 1200 Gy (dose rate of 90 Gy/hour).

High doses of gamma radiation did not affect the germination rate of white lupin seeds. A statistically significant decrease in germination percentage was observed only at a dose of 100 Gy (94 %) compared to the control group (99 %). The average germination time of seeds was statistically significantly increased in groups exposed to gamma radiation in the dose range from 200 to 1200 Gy, compared to the control. The weighted percentage of seed germination statistically significantly decreased with increasing dose. A statistically significant difference was revealed at a dose of 25 Gy and at doses ranging from 100 to 1200 Gy. The adjusted germination energy index statistically significantly decreased in the dose range from 200 to 1200 Gy compared to the control group. In groups of seeds exposed to gamma radiation at doses of 100 and 1200 Gy, a statistically significant increase in the synchrony index was observed, indicating a disruption of seed germination synchrony in white lupin.

A statistically significant inhibition of shoot length was recorded at a dose of 25 Gy and in the dose range from 200 to 1200 Gy. The dose of 100 Gy had a statistically significant stimulating effect. Regarding the length of the hypocotyl, a significant increase in this parameter was observed at a dose of 25 Gy, and a significant decrease was observed in the dose range from 100 to 1200 Gy. This dose range (100-1200 Gy) also had a statistically significant inhibitory effect on root length and seedling biomass.

Correlation analysis of morphometric parameters: seedling biomass, shoot length, hypocotyl length, and root length, showed that there was a statistically significant strong negative correlation between the dose and the measured parameters. The strongest correlation was between the dose and shoot length ( $\rho = -0.78$ ;  $p = 4.44e-139$ ). A strong positive correlation was also found between the studied morphometric parameters, with the strongest correlation between shoot length and hypocotyl length ( $\rho = 0.90$ ;  $p = 1.05e-245$ ).

Additionally, as a result of the experiment, doses of gamma radiation causing a 30% and 50% reduction in shoot length on the 11th day for the Michurinsky white lupin variety were identified: 237 and 410 Gy. LD 30 and 50 on the 60th day were 415 and 695 Gy, respectively.

*Keywords: Lupinus albus; gamma radiation; germination parameters, RD 50, LD 50*

## ПЕРВИЧНЫЕ ИТОГИ ИЗУЧЕНИЯ ИНТРОДУКЦИИ КРЫЖОВНИКА В УСЛОВИЯХ ГОРНОГО БАДАХШАНА ТАДЖИКИСТАН

Холдорбеков З. С. , Фелалиев А. С.

*Хорогский государственный университет им. М. Назаршоева*  
*[sorbon84@inbox.ru](mailto:sorbon84@inbox.ru)*

Крыжовник является ценной ягодной культурой. Его ценят за скороплодность, долговечность, высокую ежегодную продуктивность, высокие вкусовые качества плодов, широкий спектр их созревания и хорошую транспортабельность, что обеспечивает удовлетворение самых разнообразных запросов потребителей. Плоды крыжовника употребляют в свежем виде, из них готовят компоты, варенье, джемы, пастилу, соки. Разнообразие сортов, созревающих в разные сроки, позволяет иметь свежие созревшие плоды крыжовника в течение 30-40 дней.

В последние годы в Горном Бадахшане Таджикистана наметились тенденции интродукции сортов крыжовника. Следует отметить, что многие садоводы – любители, приобретая новые сорта, допускают ошибки по оценке этих сортов, не позволяющие в полной мере реализовать их биологический потенциал в новых условиях. Определяющим фактором распространения сортов крыжовника является оценка их продуктивности и устойчивости в новых условиях.

В последние десятилетия, появились новые сорта крыжовника, которые характеризуются высокой зимостойкостью, урожайностью, слабооколюченностью. Многие из этих сортов уже прошли испытание в различных климатических зонах, но в условиях Горного - Бадахшана новые сорта еще не изучены.

Актуальным вопросам развития ягодного садоводства Горного - Бадахшана является увеличение и улучшение сортимента, ускорение сортообновления. Одним из путей решения этой проблемы – интродукция ценных сортов из других регионов.

В связи с этим одной из задач наших исследований является интродукционное испытание, а в дальнейшем и введение в культуру новых видов и сортов плодовых и ягодных растений. Такая работа проводится с сортами смородины, малины и крыжовника, особую ценность из которых представляет крыжовник.

Работа по коллекционному изучению крыжовника проводилась в плодпитомнике Памирского биологического института им. Х.Ю. Юсуфбекова Национальной академии наук Таджикистана. Всего в испытании находилось 6 сортов (Крыжовник обыкновенный, Чёрный Негус, Командор, Русский красный, Финик, Малахит) - 2020 года посадки. Сортосовый фонд представлен сортами интродуцированными из различных эколого – географических зон Российской Федерации. Сорта крыжовника были привезены из Российского государственного аграрного университета – МСХА им. К.А.Тимирязева г.Москвы Российской Федерации. Изучали: наступление основных фенологических фаз, продуктивность, качество ягод.

Результаты наших исследования показали, что перечисленные сорта крыжовника успешно переносят интродукцию, а почвенно – климатические условия выращивания подходят для данной культуры, представляющей интерес как новое и перспективное ягодное растение для Горного Бадахшана, исследование которой необходимо продолжить.

*Ключевые слова:* Крыжовник, Горный – Бадахшан, сорт, зимостойкость, интродукция, продуктивность.

## PRIMARY RESULTS OF STUDYING THE INTRODUCTION OF GOOSEBERRY IN THE CONDITIONS OF MOUNTAINOUS BADAKHSHAN OF TAJIKISTAN

Kholdorbekov Z. S. , Felaliev A. S.

*Khorog State University named of M.Nazarshoev*  
*[sorbon84@inbox.ru](mailto:sorbon84@inbox.ru)*

Gooseberries are a valuable berry crop. It is valued for its early fruiting, durability, high annual productivity, high taste of fruits, a wide range of ripening and good transportability, which ensures the satisfaction of a wide variety of consumer demands. Gooseberries are consumed fresh; compotes, preserves, jams, marshmallows, and juices are prepared from them. The diversity of sorts, that ripen at different times allows you to have fresh ripened gooseberries within 30-40 days.

In recent years, there have been trends in the introduction of gooseberry varieties in Gorno-Badakhshan of Tajikistan. It should be noted that many amateur gardeners, when purchasing new varieties, make mistakes in evaluating these varieties, which do not allow them to fully realize their biological potential in new conditions. The determining factor in the distribution of gooseberry varieties is the assessment of their productivity and stability in new conditions.

In recent decades, new varieties of gooseberries have appeared, which are characterized by high winter hardiness, productivity, and low thorns. Many of these varieties have already been tested in various climatic zones, but new varieties have not yet been studied in the conditions of Gorno-Badakhshan.

Current issues in the development of berry gardening in Gorno-Badakhshan are increasing and improving the assortment and accelerating variety renewal. One of the ways to solve this problem is the introduction of valuable varieties from other regions.

In this regard, one of the tasks of our research is introduction testing, and subsequently the introduction into culture of new species and varieties of fruit and berry plants. This work is carried out with varieties of currants, raspberries and gooseberries, of which gooseberries are of particular value.

Work on the collection study of gooseberries was carried out in the fruit nursery of the Pamir Biological Institute named after. H.Yu. Yusufbekov National Academy of Sciences of Tajikistan. In total, 6 varieties were tested (Common Gooseberry, Black Negus, Komandor, Russian Red, Date, Malachite) - planted in 2020. The varietal fund is represented by varieties introduced from various ecological and geographical zones of the Russian Federation. Gooseberry varieties were brought from the Russian State Agrarian University - MAA named after. K.A. Timiryazev, Moscow, Russian Federation. We studied: the onset of the main phenological phases, productivity, and quality of berries.

The results of our research showed that the listed gooseberry varieties successfully tolerate introduction, and the soil and climatic growing conditions are suitable for this crop, which represents as a new and perspective berry plant for Gorno- Badakhshan, the study of which needs to be continued.

*Keywords:* Gooseberry, Mountain - Badakhshan, variety, winter hardiness, introduction, productivity.

**ОПТИМИЗАЦИЯ ТЕХНОЛОГИИ КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ И  
АНАТОМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КОРНЕЙ *PHRAGMIPEDIUM KOVACHII* J.T.  
ATWOOD, DALSTRÖM & RIC.FERNÁNDEZ**

**Хуссиен М.<sup>1</sup>, Молканова О. И.<sup>1</sup>, Орлова Е. Е.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> *ФГБУН Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН*

<sup>2</sup> *РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева,  
[muthab.hussien95@gmail.com](mailto:muthab.hussien95@gmail.com)*

*Phragmipedium kovachii* J.T.Atwood, Dalström & Ric.Fernández является одним из самых высокодекоративных видов орхидей. Этот вид относится к наземным орхидеям, с уникальными цветками диаметром 10-20 см. В настоящее время естественная среда обитания этого таксона значительно сокращена. В связи с этим *P. kovachii* включён в Приложение I СИТЕС, которая запрещает международную коммерческую торговлю. Целью данного исследования являлась разработка эффективного протокола для размножения протокормоподобных тел (PLBs), развитие регенерантов и укоренения *P. kovachii* для его сохранения *ex situ*. Объектами данного исследования служили регенеранты высотой 1.0-1.2 см и протокормоподобные тела. Основной питательной средой для всех экспериментов была 1/2 Murashige and Skoog (1962) (MS). На этапе собственно микроразмножения использовали различные сочетания регуляторов роста 6- бензиламинопурина (6-БАП) и индолилуксусная кислота (ИУК) с добавлением 100 мл/л кокосовой воды (CW) и без нее. Затем регенераты рекультивировали на питательной среде с добавлением различных органических добавок CW и 50 г/л бананового пюре (BN) и разных цитокининов 6-БАП, кинетин (Кин), мета-тополин (mT) в концентрации 0.5 мг/л. На стадии укоренения использовали питательную среду 1/2 MS с различными органическими добавками и ауксинами: ИУК и индолил-3-масляная кислота (ИМК) в концентрациях (0.5 и 1.0 мг/л). В качестве контроля использовали питательную среду без регуляторов роста. Срезы фиксированных корней сделаны с помощью микротомы МС-2 с подключенным замораживающим столиком ОМТ-2802 Е. Толщина срезов составляла 40-60 мкм. Для выявления лигнификации клеточных стенок корней срезы окрашивали альциановым синим и сафранином.

В результате исследования установлено, что наибольшее число адвентивных побегов ( $5.67 \pm 0.17$  шт.) получено на питательной среде с добавлением CW, 2.0 мг/л 6-БАП и 0.4 мг/л ИУК. В то же время, наибольший процент формирования PLBs (96.7%) и их количество ( $12.58 \pm 0.33$  шт.) отмечены на питательной среде, содержащей CW, 2.0 мг/л 6-БАП и 0.6 мг/л ИУК. На этапе развития регенерантов установлено, что наилучшей является питательная среда с добавлением 0.5 мг/л 6-БАП и CW. При её использовании у регенерантов зафиксированы наибольшие значения изученных признаков: длина проростков ( $1.98 \pm 0.06$  см), число листьев ( $3.50 \pm 0.14$  шт.) и число адвентивных побегов ( $5.58 \pm 0.22$  шт.). На стадии укоренения проростков максимальный процент укоренения (96%) и наибольшее число корней ( $4.33 \pm 0.19$  шт.) достигнуты на среде, содержащей BN и 0.5 мг/л ИМК. Однако наибольшая длина растения ( $5.20 \pm 0.07$  см) и наибольшая длина корня ( $4.27 \pm 0.20$  см) были получены на питательной среде с добавлением CW и 1.0 мг/л ИУК. При культивировании регенерантов на питательной среде с добавлением BN отмечено, что корни имели более развитый центральный цилиндр и содержали много крахмальных зерен в паренхимных клетках. Стела представляет собой пентархный пучок с паренхимной сердцевинкой. Однако на питательной среде, содержащей CW кортекс был толще и паренхимные клетки были крупнее. Стела является тетрархным пучком с склеренхимной сердцевинкой и большим количеством сосудов ксилемы. Полученные результаты позволяют сохранять *P. kovachii ex situ*.

Работа выполнена в рамках ГЗ ГБС РАН (№ 122042700002-6).

**Ключевые слова:** Orchidaceae, регуляторы роста, органические добавки, анатомия, корни

IMPROVING OF CLONAL MICROPROPAGATION TECHNOLOGY AND ANATOMICAL  
ROOT FEATURES OF PHRAGMIPEDIUM KOVACHII J.T. ATWOOD, DALSTRÖM &  
RIC.FERNÁNDEZ

Hussien M. , Molkanova O. , Orlova E.

Tsitsin Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences  
[muthab.hussien95@gmail.com](mailto:muthab.hussien95@gmail.com)

*Phragmipedium kovachii* J.T. Atwood, Dalström & Eric. Fernandez is one of the most beautiful orchid species. This plant belongs to the group of terrestrial orchids and is characterized by its unique flowers, which have a diameter of 10-20 cm. The natural habitat of this species has been significantly diminished. Consequently, *P. kovachii* is listed in Appendix I of CITES, which prohibits international commercial trade of this plants. The aim of this study was to develop an efficient protocol for the mass propagation of protocorm-like bodies (PLBs), regeneration, and rooting of *P. kovachii* for its *ex-situ* conservation. The subjects of this study were regenerants measuring 1.0-1.2 cm and PLBs. The nutrient medium used for all experiments was half-strength Murashige and Skoog (1962) (½ MS). During the multiplication stage, various combinations of the growth regulators: 6- benzylaminopurine (6-BAP) and indole-3-acetic acid (IAA), with and without the addition of 100 ml/l coconut water (CW), were tested. Subsequently, the regenerants were recultivated on a nutrient medium supplemented with various organic additives: CW and 50 g/l banana puree (BN), along with various cytokinins such as 6-BAP, kinetin (Kin), and meta-topolin (mT) at a concentration of 0.5 mg/l. At the rooting stage, a ½ MS nutrient medium with different organic additives and auxins, including IAA and indole-3-butyric acid (IBA) at concentrations of 0.5 and 1.0 mg/l, was used. A nutrient medium without growth regulators served as the control. Sections of the fixed roots were prepared using an MS-2 microtome with a connected freezing table OMT- 2802 E. The thickness of the sections was 40-60 microns. To identify the lignification of the cell walls in the roots, the sections were stained with Alcian blue and safranin. The results of the study showed that the largest number of adventitious shoots ( $5.67 \pm 0.17$  units) was obtained on a nutrient medium supplemented with CW, 2.0 mg/l 6-BAP, and 0.4 mg/l IAA. The highest percentage of PLB formation (96.7%) and the highest number of PLBs ( $12.58 \pm 0.33$  units) were observed on a nutrient medium containing CW, 2.0 mg/l 6-BAP, and 0.6 mg/l IAA. During the PLB regeneration stage, the best nutrient medium was ½ MS with 0.5 mg/l 6-BAP and CW. The highest values for seedling length ( $1.98 \pm 0.06$  cm), the number of leaves ( $3.50 \pm 0.14$  units), and the number of adventitious shoots ( $5.58 \pm 0.22$  units) were recorded on this medium. At the seedling rooting stage, the highest percentage of rooting (96%) and the largest number of roots ( $4.33 \pm 0.19$  units) were achieved on a medium containing BN and 0.5 mg/l IBA. However, the highest seedling length ( $5.20 \pm 0.07$  cm) and root length ( $4.27 \pm 0.20$  cm) were obtained on a nutrient medium supplemented with CW and 1.0 mg/l IAA. When regenerants were cultivated on a nutrient medium containing BN, the roots exhibited a more developed central cylinder and contained many starch grains in parenchymal cells. The stele had a pentarch arrangement with a parenchymal pith. In contrast, on a nutrient medium containing CW, the cortex was thicker, and the parenchymal cells were larger. The stele had a tetrarch arrangement with a sclerenchymal pith and a large number of xylem vessels. The results obtained from this study provide an effective method for the *ex-situ* conservation of *P. kovachii*.

This research was funded by assignments (№ 122042700002-6) of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation.

**Keywords:** Orchidaceae, growth regulators, organic additives, anatomy, roots

## РЕЗУЛЬТАТЫ 6-ЛЕТНИХ ИСПЫТАНИЙ НОВЫХ ГИБРИДОВ ОСИНЫ В УСЛОВИЯХ ЦЧР

Царев В. А. , Царев А. П. , Царева Р. П. , Милигула Е. Н.

*ФГБУ "Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии"*  
[vad.tsareff@yandex.ru](mailto:vad.tsareff@yandex.ru)

Осина является одной из самых неприхотливых и широко распространенных в Российской Федерации лесных древесных пород. Ее древесина используется в спичечной, целлюлозно-бумажной и химической промышленности, в топливном и других отраслях хозяйства. Однако ее главным недостатком является поражение сердцевинной гнилью.

Одним из путей улучшения осины является гибридизация и отбор перспективных новых гибридов, полученных как при сибсовом, так и полусибсовом происхождении. Целью данного исследования является испытание гибридного потомства, полученного во "ВНИИЛГИСбиотех" от 19 вариантов скрещивания различных клонов осины, отобранных, в Центральном Черноземье (Воронежская и Белгородская области) и в Латвии ("ЛАТНИИЛХП").

Кроме сибсовых потомств в испытания были включены полусибсовые потомства от 6 материнских деревьев. В результате первичного испытания (в течение первых двух лет) в школьном отделении было отобрано около 200 лучших растений, из которых создан сортоиспытательный полигон. Участок заложен в селе Латное Семилукского района Воронежской области. Посадка осуществлена 2-х летними гибридными сеянцами с размещением 4×2 м в трех повторностях. Было высажено 137 сибсовых и 54 полусибсовых гибридов осины.

В 6-летнем возрасте высота сибсовых потомств варьировала от 6,1 до 7,5 м, в среднем по участку она составляла 6,7 м; диаметр – от 5 до 8 см (в среднем он был 6,4 см), сохранность 83,3 %. Лучшие показатели сохранности и роста в этом возрасте отмечены были в семьях 10-03×32-03, 10-03×45-03, 18-02×07-02, 18-02×07-02, 23-05×32-03, 32-05×08-02 (высота 7,0-7,5 м, диаметр – 7-8 см при сохранности 89-100 %) То есть в семьях, полученных при географически отдаленной гибридизации (местные формы с клонами из других регионов: Ос. местная × Ос. американская, Ос. из Валук с Ос. местной и др.).

В группе полусибсовых гибридов сохранность была несколько выше и составляла 94,5 %. Средняя высота полусибсовых семей была равна 7,1 м с вариацией от 6,6 до 7,7 м; средний диаметр – 7,1 см с более широкой амплитудой колебания (от 5,6 до 8,9 см). Достоверно лучшим по росту в этой группе было полусибсовое потомство от осины 10-03 со средней высотой 7,5 м, диаметром 8,9 см, т.е. потомство от местной осины.

Таким образом, в результате 6-летних испытаний новых гибридов осины на Латненском сортоучастке выделено 7 лучших гибридных потомств с высотой 7,0-7,7 м и диаметром – 7,8-8,9 см, которые можно рекомендовать для создания плантационных насаждений в регионе исследования.

## RESULTS OF THE 6-YEAR NEW ASPEN HYBRIDS TESTING UNDER ENVIRONMENT OF THE CENTRAL CHERNOZEM REGION

Tsarev V. A. , Tsarev A. P. , Tsareva R. P. , Miligula E. N.

*FSBI "All-Russian Research Institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology"*  
*vad.tsareff@yandex.ru*

Aspen is one of the most unpretentious and widespread forest tree species in the Russian Federation. Its wood is used in the matchmaking, pulp and paper and chemical industries, in the fuel and other sectors of the economy. However, its main disadvantage is the defeat of core rot.

One of the ways to improve aspen is hybridization and selection of promising new hybrids obtained with both sib and semi-sib origin. The purpose of this study is to test hybrid offspring obtained at the 'All-Russian Research Institute of the Forest Genetics, Breeding and Biotechnology' from 19 variants of crossing various aspen clones selected in the Central Chernozem region (Voronezh and Belgorod regions) and in Latvia ('Latvian Research Institute of the Forestry Problems').

In addition to sib offspring, semi-sib offspring from 6 female parent trees were included in the tests. As a result of the initial testing (during the first two years), about 200 best plants were selected in the forest nursery, from which a variety testing ground was created. The plot was laid in the village of Latnoye in the Semiluky district of the Voronezh region. Planting was carried out by 2-year-old hybrid seedlings with a placement of 4×2 m in three repetitions. 137 sib and 54 semi-sib aspen hybrids were planted.

At the age of 6, the height of the sib offspring varied from 6.1 to 7.5 m, aggregate average of the site was 6.7 m; diameter – from 5 to 8 cm (aggregate average of the site was 6.4 cm), survival was 83.3%. The best indices of survival and growth at this age were noted in families 10-03×32-03, 10-03×45-03, 18-02×07-02, 18-02×07-02, 23-05×32-03, 32-05×08-02 (height – 7.0-7.5 m, diameter – 7-8 cm with a survival of 89-100%). It is in families obtained by geographically distant hybridization (local forms with clones from other regions: *As. local* × *As. American*, *As. from Valuiky* with *As. local* etc.).

In the group of semi-sib hybrids the survival was slightly higher and amounted to 94.5%. The average height of the semi-sib families was 7.1 m with a variation from 6.6 to 7.7 m; the average diameter was 7.1 cm with wider oscillation amplitude (from 5.6 to 8.9 cm). The significantly best growth in this group was the semi-sib offspring from aspen 10-03 with an average height of 7.5 m and a diameter of 8.9 cm, i.e. offspring from a local aspen.

Thus, as a result of 6-year tests of new aspen hybrids at the Latnoye variety site, 7 best hybrid offspring with a height of 7.0-7.7 m and a diameter of 7.8-8.9 cm were identified, which can be recommended for the creation of forest plantations in the region.



## СОРТ КАК ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОСНОВА СЕЛЕКЦИОННОГО ПРОЦЕССА ФУНДУКА (*CORYLUS PONTICA* С. КОЧ.) В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ ЮГА РОССИИ

Цатурян Г. А. , Цатурян Г. А. , Тутберидзе Ц. В. , Кондратенко Е. И. , Симонян Т. А. ,  
Конинская Н. Г. , Шхалахова Р. М. , Зубачева Е. , Сергеева Я.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский  
центр «Субтропический научный центр Российской академии наук»  
[grisha.tsaturyan@yandex.ru](mailto:grisha.tsaturyan@yandex.ru)

Улучшение качества жизни россиян неразрывно связано с увеличением производства высококачественных продуктов питания. Одной из распространенных культур в сельскохозяйственной отрасли является фундук (*Corylus pontica* С. Koch.). Продукция ореха фундука пользуется неограниченным спросом у населения и является незаменимым сырьем для кондитерской промышленности. Изучение культуры фундука остается актуальным в интенсификации садоводства, что позволило в Субтропическом научном центре Российской академии наук (ФИЦ СНЦ РАН) подобрать лучшие его сорта. Урожайность новых сортов значительно превосходит распространенный сорт Черкесский-2, а качество плодов не уступает по содержанию жира и белка. Новые сорта обладают полигенной устойчивостью и толерантностью к основным биотическим и абиотическим стресс-факторам.

Регионы Северного Кавказа (Адыгея, Кабардино-Балкария, Дагестан), а также зарубежные страны (Иран, Сербия, Абхазия) ведут посадки фундука с внедрением сортов и технологий, разработанных в ФИЦ СНЦ РАН более чем на 1500 га.

Для создания молекулярно-генетической базы селекционного процесса фундука были определены генетические дистанции его перспективных сортов. Исследовались 7 («Шедевр 2», «Бомба», «Кировградская», «Барселонский», «Варшавский», «Ламберта Краснолиственный», «Косфорд») сортов фундука из коллекции ФИЦ СНЦ РАН. ДНК выделяли по протоколу СТАВ (Doyle, 1990) с модификациями. Качество полученной ДНК проверяли электрофорезом в 1% агарозном геле, концентрацию ДНК определяли на BioDrop  $\mu$ Lite (Biodrop, Cambridge, UK). Рабочую концентрацию доводили до 150 нг/мкл. Для исследования применяли набор из 30 SSR маркеров. Реакционная смесь для ПЦР состояла из 10 мкл 2х реакционного буфера HS – TaqPCR, содержащего Hot Start Taq – полимеразу; 0,4 мкл праймера; 3,3 мкл 6х буфера для нанесения; 1 мкл ДНК (150 нг/мкл) и обработанной DEPC воды в общем объеме ПЦР 20 мкл. С применением термоциклера MiniAmp (Thermo Fisher Scientific, США) провели амплификацию фрагментов ДНК при следующих условиях: первичная денатурация 5 мин при 95 °С, отжиг 35 циклов денатурация при 95 °С в течение 1 мин, отжиг при 50 °С в течение 1 мин, элонгация при 72 °С в течение 2 мин и финальная элонгация при 72 °С в течение 5 мин. Полученные ПЦР-продукты разделяли в 2% агарозном геле в течение 2 ч при напряжении 90 В в 1х ТАЕ буфере. Анализ результатов представили в виде бинарной матрицы (1/0). Анализ генетических дистанций провели с помощью GeneAlex ver. 6.5 (Peakall, Smouse, 2006; Peakall, Smouse, 2012).

По результатам РСoA анализа на основе SSR-маркеров определены генетические дистанции 7-ми сортов фундука. Исследуемые образцы разделились на 2 генетически отдаленных кластера. В первый кластер сгруппировались генетически более близкие сорта «Варшавский», «Кировградская», «Барселонский». Во второй кластер сгруппировались сорта «Ламберта Краснолиственный» и «Шедевр 2». Однако сорта «Косфорд» и «Бомба» показали различия и располагались отдельно от других образцов, что свидетельствует о возможных генетических примесях в генотипах данных сортов. В дальнейшем планируется провести более масштабный анализ с полной выборкой коллекции фундука ФИЦ СНЦ РАН.

Работа подготовлена в рамках реализации ГЗ ФИЦ СНЦ РАН FGRW-2024-0005, регистрационный номер «1022040700995-7-1.6.4».

## VARIETY AS A GENETIC BASIS FOR THE SELECTION PROCESS OF HAZELNUT (CORYLUS PONTICA C. KOCH.) IN MODERN CONDITIONS OF THE SOUTH OF RUSSIA

Tsaturyan G. A. , Tsaturyan G. A. , Tutberidze T. V. , Kondratenko E. I. , Simonyan T. A. , Koninskaya N. G. , Shkhalakhova R. M. , Zubacheva E. , Sergeeva Y.

*Federal Research Centre the Subtropical Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences*  
[grisha.tsaturyan@yandex.ru](mailto:grisha.tsaturyan@yandex.ru)

Improving the quality of life of Russians is inextricably linked with increasing the production of high-quality food products. One of the common crops in the agricultural sector is hazelnut (*Corylus pontica* C. Koch.). Hazelnut products are in unlimited demand among the population and are an indispensable raw material for the confectionery industry. The study of hazelnut culture remains relevant in the intensification of horticulture, which allowed the Subtropical Scientific Center of the Russian Academy of Sciences (SSC RAS) to select its best varieties. The yield of new varieties significantly exceeds the common Cherkessky-2 variety, and the quality of the fruit is not inferior in fat and protein content. New varieties have polygenic resistance and tolerance to the main biotic and abiotic stress factors. The regions of the North Caucasus (Adygea, Kabardino- Balkaria, Dagestan), as well as foreign countries (Iran, Serbia, Abkhazia) are planting hazelnuts with the introduction of varieties and technologies developed in the FRC SRC RAS on more than 1500 hectares. To create a molecular genetic base for the hazelnut breeding process, genetic distances of its promising varieties were determined. Seven (Shedevr 2, Bomba, Kirovgradskaya, Barselsky, Varshavsky, Lambert Krasnolistny, Kosford) hazelnut varieties from the collection of the FRC SRC RAS were studied. DNA was isolated according to the CTAB protocol (Doyle, 1990) with modifications. The quality of the obtained DNA was checked by electrophoresis in 1% agarose gel, the DNA concentration was determined on BioDrop  $\mu$ Lite (Biodrop, Cambridge, UK). The working concentration was adjusted to 150 ng/ $\mu$ l. A set of 30 SSR markers was used for the study. The PCR reaction mixture consisted of 10  $\mu$ l of 2x HS-TaQPCR reaction buffer containing Hot Start Taq polymerase; 0.4  $\mu$ l of primer; 3.3  $\mu$ l of 6x loading buffer; 1  $\mu$ l of DNA (150 ng/ $\mu$ l) and DEPC-treated water in a total PCR volume of 20  $\mu$ l. Using a MiniAmp thermal cycler (Thermo Fisher Scientific, USA), DNA fragments were amplified under the following conditions: primary denaturation for 5 min at 95 °C, annealing for 35 cycles of denaturation at 95 °C for 1 min, annealing at 50 °C for 1 min, elongation at 72 °C for 2 min, and final elongation at 72 °C for 5 min. The resulting PCR products were separated in a 2% agarose gel for 2 h at 90 V in 1x TAE buffer. The analysis of the results was presented as a binary matrix (1/0). Genetic distance analysis was performed using GeneAlex ver. 6.5 (Peakall, Smouse, 2006; Peakall, Smouse, 2012). Based on the results of PCoA analysis based on SSR markers, genetic distances of 7 hazelnut varieties were determined. The studied samples were divided into 2 genetically distant clusters. The first cluster included genetically closer varieties "Varshavsky", "Kirovgradskaya", "Barcelona". The second cluster included varieties "Lamberta Krasnolistny" and "Shedevr 2". However, the varieties "Cosford" and "Bomba" showed differences and were located separately from other samples, which indicates possible genetic admixtures in the genotypes of these varieties. In the future, it is planned to conduct a larger-scale analysis with a full sample of the hazelnut collection of the FRC SRC RAS. The work was prepared as part of the implementation of the State Task Force FGRW-2024-0005, registration number «1022040700995-7-1.6.4».

## ИЗУЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ УСТОЙЧИВОСТИ СОРТОВ МАСЛИНЫ ЕВРОПЕЙСКОЙ К НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОМУ СТРЕССУ

Цюпка В. А. , Цюпка С. Ю. , Синченко А. В.

ФГБУН «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН»  
[valentina.brailko@yandex.ru](mailto:valentina.brailko@yandex.ru)

*Olea europaea* L. – древнейшая сельскохозяйственная культура, экономический потенциал которой в Российской Федерации слабо реализован из-за ее низкой морозостойкости. Абиотический стресс является основным фактором, препятствующими достижению глобальной продовольственной безопасности, что обуславливает необходимость срочной разработки более адаптированных генотипов. Решающим этапом создания устойчивых к морозу сортов маслины является идентификация ключевых метаболических процессов и элементов генетических сетей, ответственных за адаптацию к данному абиотическому стрессу. Никитский ботанический сад обладает уникальной коллекцией, которая насчитывает более 260 сортов и гибридных форм *O. europaea*, проводится направленная селекция по признаку низкотемпературной устойчивости.

По результатам аналитического обзора литературы составлена база дифференциально-экспрессирующихся генов, ассоциированных с морозостойкостью. Охвачены гены, связанные с составом мембраны, гены метаболизма фенилпропаноидов, гены ферментов антиоксидантной системы, аскорбат-глутатионового цикла, гены биосинтеза секоиридоидов и фенольных соединений: 8-гидроксигераниол оксидоредуктаза (8-HGO), иридоидсинтаза (ISY), иридоидоксидаза (IO), 7-дезоксилогановая кислота-О-глюкозилтрансфераза (7-DLGT), 7-дезоксилогановая кислота гидроксилаза (7-DLH), логаниновая кислота метилтрансфераза (LAMT), секологанинсинтаза (SLS), арогенат-дегидрогеназа (ADH), 1-дезоксид-D-ксилоулоза-5-Р синтаза арогенат дегидрогеназа (DXS), гераниол-синтаза (GES), фенилаланин-аммиак-лиаза (PAL), гераниол 10-гидроксилаза (GE10H), секологанин-синтаза (SLS), полифенолоксидаза (PPO), каталазы (CAT), аскорбатпероксидазы (APX), пероксидазы (POX), а также специфических рецепторов АБК – АБК- зависимая протеинкиназа (PYL4 и SNRK). Последовательности генов взяты из баз NCBI, Ensemble Gramene. Праймеры для последующего экспрессионного анализа разработаны в программе Primer-BLAST.

Анализ транскрипционной активности подобранных генов, реагирующих на низкотемпературный стресс, даст возможность осуществления целенаправленной селекции и генетического улучшения форм для нужд сельского хозяйства.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 24-26-00139 на базе Уникальной научной установки "ФИТОБИОГЕН".

**Ключевые слова:** морозостойкость, маслина европейская, гены, ассоциированные с ответом на низкотемпературный стресс.

## STUDY OF MOLECULAR MECHANISMS OF RESISTANCE OF OLEA EUROPAEA L. VARIETIES TO LOW-TEMPERATURE STRESS

Tsiupka V. , Tsiupka S. , Sinchenko A.

*Nikita Botanical Gardens—National Scientific Center of the RAS*  
[valentina.brailko@yandex.ru](mailto:valentina.brailko@yandex.ru)

Olive is an ancient agricultural crop, the economic potential of which in the Russian Federation is poorly realized due to its low frost resistance. Abiotic stress is the main factor preventing the achievement of global food security, which necessitates the urgent development of more adapted genotypes. The decisive stage in the creation of frost-resistant olive varieties is the identification of key metabolic processes and elements of genetic networks responsible for adaptation to this abiotic stress. Nikitsky Botanical Garden has a unique collection, which includes more than 260 varieties and hybrid forms of *O. europaea*, targeted selection is carried out based on low-temperature resistance. Based on the results of an analytical review of the literature, a database of differentially expressed genes associated with frost resistance was compiled. The genes associated with membrane composition, phenylpropanoid metabolism genes, antioxidant system enzyme genes, ascorbate-glutathione cycle genes, secoiridoids and phenolic compounds biosynthesis genes are covered: 8-hydroxygeraniol oxidoreductase (8-HGO), iridoid synthase (ISY), iridoid oxidase (IO), 7-deoxyloganoic acid-O-glucosyltransferase (7-DLGT), 7-deoxyloganoic acid hydroxylase (7-DLH), loganic acid methyltransferase (LAMT), secologanine synthase (SLS), arogenate dehydrogenase (ADH), 1-deoxy-D-xylulose-5-P synthase arogenate dehydrogenase (DXS), geraniol synthase (GES), phenylalanine ammonia lyase (PAL), geraniol 10-hydroxylase (GE10H), secologanine synthase (SLS), polyphenol oxidase (PPO), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX), peroxidase (POX), as well as specific ABA receptors - ABA-dependent protein kinase (PYL4 and SNRK). Gene sequences were taken from the NCBI, Ensemble Gramene databases. Primers for subsequent expression analysis were developed in the Primer-BLAST program.

Analysis of the transcriptional activity of the selected genes responding to low-temperature stress will enable targeted selection and genetic improvement of forms for agricultural needs.

The study was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation grant No. 24-26-00139 on the basis of the Unique Scientific Facility "FITOBIOGEN".

**Keywords:** frost resistance, European olive, genes associated with response to low-temperature stress.

**ФЕНОТИПИРОВАНИЕ ПЕРСИКА ПО ПРИЗНАКУ ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТЬ****Цюпка В. А. , Цюпка С. Ю. , Месяц Н. В. , Смыков А. В.**

*ФГБУН «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН»  
[valentina.brailko@yandex.ru](mailto:valentina.brailko@yandex.ru)*

Основной задачей селекции плодовых культур является создание новых генотипов, превосходящих по своим биологическим и хозяйственным свойствам районированные сорта, широко распространенные и выращиваемые в производственных условиях. Устойчивость к засухе – важный полигенный признак. К засухоустойчивости относят способность растений переносить последствия засухи и обезвоживание тканей. В связи с этим, для ранжирования выборки из 158 сортов персика, было проведено изучение показателей их водного режима в условиях максимального стресса летнего периода. Определено, что оводненность листьев варьировала от 45,5% до 74,9%, что составляло от 82 до 98% от полной влагоемкости. Среднее значение по выборке составило 66,2%. Водный дефицит тканей листа варьировал от 0,8 % у сорта Земпуш до 17,6 % у гибридной формы Кремлевский х Фаворита Мореттини 84-37. В условиях максимального напряжения гидрометеостресса летнего периода незначительный водный дефицит (до 10%) был определен для 74% изученных сортов. Водоотдача за 48 часов искусственной дегидратации в условиях контролируемого стресса составляла от 27,5% у сорта Русский до 58,9% у интродуцированного сорта Спрингтайм. При этом 22% изученных сортов отличались высокой водоудерживающей способностью тканей листа, для них 48-часовая водоотдача не превысила 35%. Оценка повреждения листовой пластинки после искусственной дегидратации позволила выделить сорта Русский и Маяковский, у которых отсутствовали видимые повреждения, а также сорта и гибриды с очень низкой степенью повреждений (до 1%) - Чемпион Ранний, Гагаринский, Золотой Юбилей х Подарок Невесте 84- 953, Ветеран х Фаворита Мореттини 80-686, Энвой. Используя полученные данные о водном режиме была построена иерархической кластеризации изученных сортов: 1 кластер объединяет 87 высоко-засухоустойчивых сортов, 2 кластер – 46 средне-засухоустойчивых сортов, 3 кластер – 23 восприимчивых к засухе сорта.

Исследование выполнено за счет средств гранта Курчатова геномного центра НБС-ННЦ № 075-15-2019-1670 на базе Уникальной научной установки «ФИТОБИОГЕН».

*Ключевые слова:* засухоустойчивость, персик, водоудерживающая способность.

## PHENOTYPING OF PEACH FOR DROUGHT TOLERANCE TRAIT

Tsiupka V. , Tsiupka S. , Mesyats N. , Smykov A.

*Nikita Botanical Gardens—National Scientific Center of the RAS*  
[valentina.brailko@yandex.ru](mailto:valentina.brailko@yandex.ru)

The main task of fruit crops breeding is the creation of new genotypes superior in their biological and economic properties to the released varieties widely spread and grown in production conditions. Drought tolerance is an important polygenic trait. Drought tolerance refers to the ability of plants to tolerate the effects of drought and tissue dehydration. In this regard, in order to rank a sample of 158 peach varieties, the study of their water regime indicators under conditions of maximum stress of the summer period was carried out. It was determined that leaf water content varied from 45.5% to 74.9%, ranging from 82 to 98% of full water holding capacity. The average value for the sample was 66.2%. Water deficit of leaf tissues ranged from 0.8% in Zempush variety to 17.6% in hybrid form Kremlevsky x Favorita Morettini 84-37. Under conditions of maximum summer hydrometeorological stress, a slight water deficit (up to 10%) was determined for 74% of the studied varieties. Water yield during 48 hours of artificial dehydration under controlled stress ranged from 27.5% in the Russian variety to 58.9% in the introduced variety Springtime. At the same time, 22% of the studied varieties were characterized by high water-holding capacity of leaf tissues, for them 48-hour water yield did not exceed 35%. Evaluation of leaf lamina damage after artificial dehydration allowed to distinguish varieties Russky and Mayakovsky, which had no visible damage, as well as varieties and hybrids with a very low degree of damage (up to 1%) - Champion Early, Gagarinsky, Golden Jubilee x Gift to the Bride 84-953, Veteran x Favorita Morettini 80-686, Envoy. Using the obtained data on water regime a hierarchical clustering of the studied varieties was constructed: 1 cluster unites 87 highly drought-tolerant varieties, 2 cluster - 46 medium-drought-tolerant varieties, 3 cluster - 23 varieties susceptible to drought.

The study was carried out at the expense of the grant of Kurchatov Genomic Center NBS-NSC No. 075-15-2019-1670 on the basis of the Unique Scientific Unit "FITOBIOGEN".

*Keywords:* drought tolerance, peach, water-holding capacity.

## ОЦЕНКА ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ СОРТОВ И ГИБРИДНЫХ ФОРМ МАСЛИНЫ ЕВРОПЕЙСКОЙ

Цюпка С. Ю. , Цюпка В. А.

*ФГБУН «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад –  
Национальный научный центр РАН»  
[tsupkanbg@mail.ru](mailto:tsupkanbg@mail.ru)*

В последние годы глобальное потепление и аридизация земель является одним из основных лимитирующих факторов в распространении сельскохозяйственных растений. Ареал возделывания *O. europaea* постепенно перемещается на север, с акцентом на выращивание и создание засухоустойчивых и морозостойких сортов. В Российской Федерации маслина выращивается в субтропической зоне Крыма и Краснодарского края, однако благодаря высокой экологической пластичности вида есть потенциал для выращивания его и в других южных регионах России. Однако, для данных территорий также актуальна проблема атмосферной засухи и недостаточного водоснабжения. Для создания новых засухоустойчивых сортов отечественной селекции из генофондовой коллекции отобрано 60 наиболее перспективных гибридов селекции Никитского ботанического сада, по которым изучены показатели водного режима и относительный выход электролита из клеток листьев в условиях сильной дегидратации тканей. Оценку повреждений листьев проводили через 24, 48 и 72 часа обезвоживания при температуре 30°C и относительной влажности воздуха 30%. Опыты проводили во время максимальной нагрузки метеофакторов (июнь-август) в 2022-2024 гг.

Показатели водного дефицита варьировали от 0 до 7,58%, относительное содержание воды от 42,1 до 57,5%. За 72 часа искусственного обезвоживания листья потеряли от 20,8 (у гибрида 35-16/13) до 46,9 % (у гибридов 35-4/15 и 35- 5/12). За это же время контрольный сорт Ascolano потерял 37,9% от своего первоначального веса. Относительный выход электролита варьировал у гибридных форм от 21 до 100%, в то время как у контрольного сорта утечка электролита составила 54%.

По результатам экспериментов выделено 15 генотипов, которые достоверно превосходят контрольный сорт Ascolano по устойчивости к засухе. Также отмечено, что временной отрезок в 72 часа позволяет наиболее объективно оценить засухоустойчивость растений маслины и выделить генотипы, устойчивые к дегидратации.

Исследование выполнено за счет средств гранта Российского научного фонда № 24-26-00066.

*Ключевые слова:* маслина, сорт, гибрид, засухоустойчивость, относительный выход электролита, водоудерживающая способность

## ASSESSMENT OF DROUGHT RESISTANCE OF OLIVE VARIETIES AND HYBRIDS

Tsiupka S. Y. , Tsiupka V. A.

*Nikita Botanical Gardens - National Scientific Center of RAS*  
[tsupkanbg@mail.ru](mailto:tsupkanbg@mail.ru)

In recent years, global warming and land aridification have been one of the main limiting factors in the spread of agricultural plants. The cultivation range of *O. europaea* is gradually moving north, with an emphasis on the cultivation and development of drought- and frost-resistant varieties. In the Russian Federation, the olive is grown in the subtropical zone of Crimea and the Krasnodar Territory, however, due to the high ecological plasticity of the species, there is potential for its cultivation in other southern regions of Russia. However, the problem of atmospheric drought and insufficient water supply is also relevant for these territories. To create new drought-resistant varieties of domestic selection, 60 of the most promising hybrids of the Nikita Botanical Gardens selection were selected from the gene pool collection, for which the indicators of the water regime and the relative yield of electrolyte from leaf cells under conditions of severe tissue dehydration were studied. Leaf damage was assessed after 24, 48 and 72 hours of dehydration at a temperature of 30°C and a relative humidity of 30%. The experiments were carried out during the maximum load of meteorological factors (June-August) in 2022-2024.

Indicators of water deficiency varied from 0 to 7.58%, relative water content from 42.1 to 57.5%. Over 72 hours of artificial dehydration, the leaves lost from 20.8 (in the hybrid 35-16/13) to 46.9% (in the hybrids 35-4/15 and 35-5/12). During the same time, the control variety Ascolano lost 37.9% of its original weight. The relative electrolyte yield varied in the hybrid forms from 21 to 100%, while in the control variety the electrolyte leakage was 54%.

Based on the results of the experiments, 15 genotypes were identified that are significantly superior to the control variety Ascolano in drought resistance. It was also noted that a time period of 72 hours allows the most objective assessment of the drought resistance of olive plants and the identification of genotypes resistant to dehydration.

The study was carried out with financial support from the Russian Science Foundation grant No. 24-26-00066.

**Keywords:** olive, variety, hybrid, drought resistance, relative electrolyte yield, water-holding capacity



**ПЕРВИЧНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИНТРОДУКЦИИ OLEA EUROPAEA L.  
ИЗ СИРИЙСКОЙ АРАБСКОЙ РЕСПУБЛИКИ****Цюпка С. Ю.**

*ФГБУН «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН»  
[tsupkanbg@mail.ru](mailto:tsupkanbg@mail.ru)*

Сирия является одним из ведущих производителей плодов маслины в мире (восьмое место по валовому сбору плодов). По данным FAO в 2022 году площадь под данной культурой здесь составила 676 тыс. га, а валовое производство достигло 991 тыс. тонн плодов. Производство плодов маслины вносит значительный вклад в экономику страны. В последние годы в Республике регулярно увеличиваются площади под маслиной (около 57% оливковых деревьев в Сирии моложе 20 лет). В настоящее время Сирия является четвертой по величине страной-производителем оливкового масла в мире. На территории данного государства насчитывается более семидесяти сортов оливок, которые выращивают в разных районах страны. Основными сортами являются: Dan, Doebli, Hemplasi, Insassy, Karamani, Khoderi, Jlot, Kaissy, Sorani, Safrawy, Souri и Zaity, которые составляют около 90% всех оливковых деревьев, выращиваемых в Сирии. Остальные - местные сорта, имеющие ограниченное распространение. В связи с тем, что Сирия является частью первоначальной среды обитания *Olea europaea* L. и имеет очень богатый и разнообразный генофонд этот регион является очень интересным для интродукции сортов на территорию Российской Федерации.

Первичная оценка интродуцированных ранее в Крым пяти сортов маслины европейской (Dan, Jlot, Sorani, Qaisi, Abbadi Abu-Ghabra) показала, что признаком крупноплодности отличаются сорта Qaisi и Abbadi Abu-Ghabra (6,5 и 9,1 г. соответственно), высоким соотношением мякоти и косточки – сорта Jlot (5,1:1), Qaisi (5,5:1), Abbadi Abu-Ghabra (7,0:1), высоким содержанием масла в плодах – сорт Sorani (29%), высокой урожайностью – сорта Jlot, Abbadi Abu-Ghabra (5 баллов).

По литературным данным перспективными для интродукции в Никитский ботанический сад являю крупноплодные сорта Kaissy и Safrawy, а также сорта с высоким содержанием масла в плодах: Zaity, Khoderi, Doebli и Insassy.

*Ключевые слова:* маслина, сорт, интродукция, сортоизучение

PRIMARY RESULTS AND PROSPECTS OF INTRODUCTION OF *OLEA EUROPAEA* L.  
FROM THE SYRIAN ARAB REPUBLIC

Tsiupka S. Y.

*Nikita Botanical Gardens - National Scientific Center of RAS*  
[tsupkanbg@mail.ru](mailto:tsupkanbg@mail.ru)

Syria is one of the leading producers of olive fruits in the world (eighth place in terms of gross fruit harvest). According to FAO, in 2022, the area under this crop here amounted to 676 thousand hectares, and gross production reached 991 thousand tons of fruits. Olive fruit production makes a significant contribution to the country's economy. In recent years, the area under olive trees has been regularly increasing in the Republic (about 57% of olive trees in Syria are under 20 years old). Syria is currently the fourth largest olive oil producing country in the world. On the territory of this state there are more than seventy varieties of olives, which are grown in different regions of the country. The main varieties are: Dan, Doebli, Hemplasi, Insassy, Karamani, Khoderi, Jlot, Kaissy, Sorani, Safrawy, Souri and Zaity, which account for about 90% of all olive trees grown in Syria. The rest are local varieties with limited distribution. Due to the fact that Syria is part of the original habitat of *Olea europaea* L. and has a very rich and diverse gene pool, this region is very interesting for the introduction of varieties into the territory of the Russian Federation.

An initial assessment of five varieties of olive previously introduced into Crimea (Dan, Jlot, Sorani, Qaisi, Abbadi Abu-Ghabra) showed that the Qaisi and Abbadi Abu-Ghabra varieties differ in the large-fruited trait (6.5 and 9.1 g, respectively), high ratio of pulp to stone - varieties Jlot (5.1:1), Qaisi (5.5:1), Abbadi Abu-Ghabra (7.0:1), high oil content in fruits - variety Sorani (29%), high yield - varieties Jlot, Abbadi Abu-Ghabra (5 points).

According to the literature, large-fruited varieties Kaissy and Safrawy, as well as varieties with high oil content in fruits: Zaity, Khoderi, Doebli and Insassy, are promising for introduction into the Nikita Botanical Gardens.

*Keywords:* olive, variety, introduction, variety study

## СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ УДВОЕННЫХ ГАПЛОИДОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА ГАПЛОПРОДУСЕРА

Чекалин А. А.<sup>1</sup>, Дуванов И. В.<sup>1</sup>, Попова О. В.<sup>1</sup>, Пронина И. В.<sup>1</sup>, Долгов С. В.<sup>2,3</sup>,  
Мирошниченко Д. Н.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ Федеральный исследовательский центр "Немчиновка", 143026, Московская обл.,  
г.п. Одинцово, р.п. Новоивановское, ул. Агротехников д. 6;

<sup>2</sup>ФГБУН Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной  
биотехнологии, 127550, г. Москва, ул. Тимирязевская д. 42;

<sup>3</sup>Филиал ФГБНУ ГНЦ Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А.  
Овчинникова РАН, 142290, Московская обл., г. Пущино, пр. Науки, д. 6  
[sasha.chekalin.98@mail.ru](mailto:sasha.chekalin.98@mail.ru)

Последние десятилетия гаплоидные биотехнологии стали неотъемлемой частью селекционных программ для многих зерновых культур. Одним из методов получения гаплоидов пшеницы является метод отдаленной гибридизации пылью кукурузы, часто называемый методом гаплопродюсера. Благодаря меньшей чувствительности пыльцы кукурузы к генам-ингибиторам скрещиваемости, данный метод позволяет индуцировать до 50% гаплоидных зародышей даже у слабо отзывчивых генотипов пшеницы. Поиск способов и подходов, повышающих эффективность гаплоидогенеза и увеличивающих выход дигаплоидизированных растений, по-прежнему, актуален.

Цель исследований - повышение гаплопродукционной способности гибридов яровой мягкой пшеницы в системах *Triticum aestivum* L. x *Zea mays* L. через совершенствование различных биотехнологических подходов. Показано, что опрыскивание колосьев либо внесение раствора ауксина 2.4-Д непосредственно на рыльце пшеницы одинаково успешно позволяет индуцировать формирование гаплоидных зерновок и гаплоидных зародышей после опыления колосьев пшеницы пылью кукурузы. Исследования показали, что дигаплоидизация растений-регенерантов *in vitro*, вместо растений *ex vitro* (стандартный подход), является одним из приемов, сокращающих время и затраты на получение дигаплоидных растений и повышающим эффективность гаплоиндукции. Колхицинирование гаплоидных растений *in vitro* позволило повысить долю выживших растений с 73% (*ex vitro* растения) до 94%, сохранить эффективность выхода дигаплоидных растений (73% против 69% у *ex vitro* растений), а также увеличить среднее число семян на одном дигаплоидном растении с 53 шт. (*ex vitro* растения) до 75 шт. Проведение комплекса биотехнологических работ в системах *T. aestivum* x *Z. mays* позволило достичь высокой эффективности завязывания гаплоидных зерновок (79-91%) при опылении пылью кукурузы растений семи гибридов F1, полученных в лаборатории селекции и первичного семеноводства яровой пшеницы ФИЦ «Немчиновка». Эффективность гаплоидного эмбриогенеза определялась гибридным генотипом, максимальную (37%) наблюдали у F1 Фаворит x Юбилейная 60, минимальную (26%) – у F1 Русалина x Дарья. Регенерация гаплоидных зародышей *in vitro* варьировала в пределах от 68% (F1 Альбидум 6 x Московская 35) до 83% (F1 Фаворит x Юбилейная 60). Эффективность выхода полноценных дигаплоидных растений составляла 8-20 растений после гибридизации 100 цветков яровой мягкой пшеницы пылью гаплопродюсера. Полученные результаты будут использованы для ускорения селекционного процесса, способствуя обнаружению редких рекомбинаций и рецессивных мутаций, получения генетически стабильной рекомбинации признаков.

IMPROVEMENT OF TECHNOLOGY FOR OBTAINING DOUBLED HAPLOIDS OF  
COMMON WHEAT USING HAPLOIDY INDUCER

Chekalin A. A.<sup>1</sup>, Duvanov I. V.<sup>1</sup>, Popova O. V.<sup>1</sup>, Pronina I. V.<sup>1</sup>, Dolgov S. V.<sup>2,3</sup>,  
Miroshnichenko D. N.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Federal Research Center "Nemchinovka", 143026, Moscow region, Odintsovo, Novoivanovskoye,  
st. Agrokhimikov, 6;

<sup>2</sup>All-Russian Research Institute of Agricultural Biotechnology, 127550, Moscow,  
st. Timiryazevskaya, 42;

<sup>3</sup>Branch of Shemyakin & Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, 142290, Moscow region,  
Pushchino, Nauki ave., 6  
[sasha.chekalin.98@mail.ru](mailto:sasha.chekalin.98@mail.ru)

In recent decades, haploid biotechnologies have become an integral part of breeding programs for many grain crops. The inter-specific hybridization with pollen of the haploidy inducer, such as maize, is one of the methods for obtaining wheat haploids. Due to the lower sensitivity of maize pollen to genes that inhibit crossbreeding, this method allows inducing up to 50% of haploid embryos even in weakly responsive wheat genotypes. The search for methods and approaches that increase the efficiency of haploidogenesis and the yield of double haploid plants is still relevant.

The aim of the research was to increase the haploproductive capacity of spring common wheat F1 hybrids in *Triticum aestivum* L. x *Zea mays* L. systems through the application of various biotechnological approaches. It has been shown that spraying ears or applying auxin 2.4-D solution directly to the wheat stigma equally successfully induces the development of haploid caryopses and haploid embryos after pollination with maize pollen. Studies have shown that chromosome doubling of *in vitro* plantlets instead of *ex vitro* plants (standard protocol) is one of the techniques increasing the efficiency and reducing the time and the cost of obtaining doubled haploid plants. The treatment of *in vitro* haploid plantlets made it possible to increase the portion of surviving plants from 73% (*ex vitro* plants) to 94%, maintain the appropriate yield of doubled haploid plants (73% versus 69% for *ex vitro* plants), and increase the average number of seeds from 53 (*ex vitro* plants) to 75 per one doubled haploid plant. A complex of modified biotechnological approaches allowed achieving high efficiency of haploid caryopsis formation (79-91%) after the pollination with maize pollen of seven F1 hybrids provided by the laboratory of breeding and primary seed production of spring wheat of the Federal Research Center "Nemchinovka". The efficiency of haploid embryogenesis was dependent from the hybrid genotype; the maximum efficiency (37%) was observed in F1 Favorit x Yubileynaya 60, the minimum (26%) was found in F1 Rusalina x Daria. Ratio of *in vitro* regeneration of haploid embryos varied from 68% (F1 Albidum 6 x Moskovskaya 35) to 83% (F1 Favorit x Yubileynaya 60). The efficiency of generating doubled haploid seedy plants was 8-20 plants per 100 flowers of wheat pollinated with a haploidy inducer. The obtained results will be used to accelerate the breeding process, facilitating the detection of rare combinations, recessive mutations and producing the genetically stable breeding lines.

## ФИТОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ И АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР И НАТИВНОГО РАСТЕНИЯ РЕДКОГО ВИДА *SILENE TATARICA* (L.) PERS., ПРОИЗРАСТАЮЩЕГО НА ТЕРРИТОРИИ КАЛИНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

Чижова А. А., Пунгин А. В.

ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта»  
[alena\\_chizhova\\_2019@mail.ru](mailto:alena_chizhova_2019@mail.ru)

*Silene tatarica* (L.) Pers. – многолетнее травянистое растения, которое включено в Красную книгу Калининградской области. Благодаря присутствию фитостероидов и других биологически активных соединений, экстракты *S. tatarica* обладают мембранотропным, мембраностабилизирующим, обезболивающим, противоотечным, противовоспалительным и гемореологическим действием. Несмотря на это фитохимический состав растения *S. tatarica* и его каллусных культур остается малоизучен. Целью работы стало исследование фитохимического профиля и антиоксидантной активности экстрактов каллусных культур и нативного растения *S. tatarica*.

Каллусная ткань *S. tatarica* культивировалась на среде Мурасиге–Скуга, содержащей следующие комбинации регуляторов роста: 0,5 мг/л ТДЗ + 2 мг/л ИМК, 0,5 мг/л ТДЗ + 2 мг/л НУК, 0,5 мг/л 2iP + 2 мг/л НУК, 0,5 мг/л БАП + 2 мг/л НУК. Экстракты были получены путем мацерации высушенного растительного материала в 70%-ном этаноле в течение

24 часов. Содержание фенольных соединений, флавоноидов, гидроксикоричных кислот (ГК) оценивалось спектрофотометрическим методом. Методы высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и тонкослойной хроматографии (ТСХ) применялись для скрининга индивидуальных фенольных соединений и  $\beta$ -экидизона. Антиоксидантная активность (АОА) экстрактов определялась методами ABTS, FRAP и DPPH. Результаты были выражены в мг-эквивалентах стандартного соединения или мкг на грамм сухой массы образца.

Высокое содержание ГК выявлено в каллусных культурах (2,80–3,17 мг-экв. хлорогеновой кислоты/г) и соцветиях растения (2,55 ± 0,43 мг-экв. хлорогеновой кислоты/г). Наибольшее накопление флавоноидов отмечено в листьях растения и составило 28,19 ± 1,75 мг-экв. рутина/г. В каллусных культурах концентрация флавоноидов была ниже, варьируясь от 1,29 до 1,87 мг-экв. рутина/г. В семенах растения зафиксировано наибольшее содержание фенольных соединений – 12,17 ± 1,93 мг-экв. галловой кислоты/г. В каллусных культурах отмечено более низкое накопление фенольных веществ, которое варьировалось от 1,57 до 3,00 мг-экв. галловой кислоты/г. Экстракт соцветий показал высокую ингибирующую активность в отношении свободных радикалов ABTS и DPPH – 183,12 ± 3,77 и 16,82 ± 0,17 мг-экв. аскорбиновой кислоты (АК)/г соответственно. При оценке методом FRAP, экстракт листьев проявил наибольшую восстанавливающую активность – 34,83 ± 2,04 мг-экв. АК/г. В свою очередь экстракты каллусных культур характеризовались низкой АОА по сравнению с экстрактами нативного растения при оценки методами DPPH (0,59–0,79 мг-экв. АК/г), ABTS (30,22–54,17 мг-экв. АК/г) и FRAP (1,68–6,79 мг-экв. АК/г). По результатам первичного скрининга экстрактов методом ТСХ было обнаружено присутствие  $\beta$ -экидизона в растении *S. tatarica*. ВЭЖХ-анализ позволил идентифицировать в нативном растении  $\beta$ -экидизон (351–11000 мкг/г), 3,4-дигидроксibenзойную кислоту (5,00–23,60 мкг/г), флавоноиды апигенин-7-О-глюкозид (9,00–45,00 мкг/г) и лютеолин-7-глюкозид (876 ± 40 мкг/г). В каллусных культурах обнаружены 3,4-дигидроксibenзойная (1,70–4,50 мкг/г), р-кумаровая (1,30–11,60 мкг/г) и феруловая (5,00 ± 0,23 мкг/г) кислоты.

Таким образом, существуют различия в фитохимическом составе и антиоксидантной активности каллусных культур и растения *S. tatarica*. Растение характеризовалось более высоким выходом фенольных соединений и антиоксидантным потенциалом. Вместе с тем, каллусные культуры *S. tatarica* могут стать источником получения фенольных веществ.

**Ключевые слова:** *Silene tatarica*, каллусные культуры, флавоноиды, фенольные соединений, фитостероиды, антиоксидантная активность

PHYTOCHEMICAL COMPOSITION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF CALLUS CULTURES AND THE NATIVE PLANT OF THE RARE SPECIES *SILENE TATARICA* (L.) PERS. GROWING IN THE KALININGRAD REGION

Chizhova A. A. , Pungin A. V.

*Immanuel Kant Baltic Federal University*  
[alena\\_chizhova\\_2019@mail.ru](mailto:alena_chizhova_2019@mail.ru)

*Silene tatarica* (L.) Pers. is a perennial herbaceous plant, which is included in the Red Book of the Kaliningrad region. Due to the presence of phytoecdysteroids and other biologically active compounds, extracts of *S. tatarica* exhibit membranotropic, membrane-stabilizing, analgesic, anti-edematous, anti-inflammatory, and hemorheological properties. Nevertheless, the phytochemical composition of the *S. tatarica* plant and its callus cultures remains poorly studied. The aim of this research was to investigate the phytochemical composition and antioxidant activity of extracts from callus cultures and the native plant *S. tatarica*.

Callus tissue of *S. tatarica* was cultured on Murashige-Skoog medium supplemented with the following combinations of growth regulators: 0.5 mg/L TDZ+2 mg/L IBA, 0.5 mg/L TDZ+2 mg/L NAA, 0.5 mg/L 2iP+2 mg/L NAA, 0.5 mg/L BAP+2 mg/L NAA. The extracts were obtained by macerating dried plant material in 70% ethanol for 24 hours. The total content of phenolic compounds, flavonoids, hydroxycinnamic acids were determined by spectrophotometric method. High-performance liquid chromatography (HPLC) and thin-layer chromatography (TLC) methods were used for the screening of individual phenolic compounds and  $\beta$ -ecdysone. Antioxidant activity of extracts was determined by ABTS, FRAP and DPPH methods. The results were expressed in mg equivalents of standard or  $\mu\text{g}$  per gram of dry weight ( $\text{mg}/\mu\text{g g}^{-1}$  DW).

The highest concentration of hydroxycinnamic acids was observed in callus cultures (2.80–3.17 mg chlorogenic acid  $\text{g}^{-1}$  DW) and inflorescences of the plant ( $2.55 \pm 0.43$  mg chlorogenic acid  $\text{g}^{-1}$  DW). The highest accumulation of flavonoids was detected in the leaves of the plant, with a concentration of  $28.19 \pm 1.75$  mg rutin  $\text{g}^{-1}$  DW. The flavonoid content in the callus cultures was found to be relatively lower, with values ranging from 1.29 to 1.87 mg rutin  $\text{g}^{-1}$  DW. The seeds of the plant exhibited the highest concentration of phenolic compounds, with a value of  $12.17 \pm 1.93$  mg gallic acid  $\text{g}^{-1}$  DW. The accumulation of phenolic compounds was lower in callus cultures, ranging from 1.57 to 3.00 mg gallic acid  $\text{g}^{-1}$  DW. The inflorescence extract exhibited high inhibitory activity against ABTS and DPPH free radicals, with values of  $183.12 \pm 3.77$  and  $16.82 \pm 0.17$  mg of ascorbic acid per gram of dry weight ( $\text{mg AA g}^{-1}$  DW), respectively. The leaf extract demonstrated the highest reducing activity ( $34.83 \pm 2.04$  mg AA  $\text{g}^{-1}$  DW) when evaluated using the FRAP method. The antioxidant activity of callus extracts was found to be lower compared to that of plant extracts, as assessed using the DPPH (0.59–0.79 AA  $\text{g}^{-1}$  DW), ABTS (30.22–54.17 AA  $\text{g}^{-1}$  DW) and FRAP (1.68–6.79 mg AA  $\text{g}^{-1}$  DW) methods. The primary screening of the extracts using TLC revealed the presence of  $\beta$ -ecdysone in *S. tatarica* plant. HPLC analysis demonstrated the presence of  $\beta$ -ecdysone (351–11000  $\mu\text{g g}^{-1}$  DW), 3,4-dihydroxybenzoic acid (5.00–23.60  $\mu\text{g g}^{-1}$  DW), and flavonoids apigenin-7-O-glucoside (9.00–45.00  $\mu\text{g g}^{-1}$  DW) and luteolin-7-glucoside ( $876 \pm 40$   $\mu\text{g g}^{-1}$  DW) in the native plant. The presence of 3,4-dihydroxybenzoic acid (1.70–4.50  $\mu\text{g g}^{-1}$  DW), p-coumaric acid (1.30–11.60  $\mu\text{g g}^{-1}$  DW) and ferulic acid ( $5.00 \pm 0.23$   $\mu\text{g g}^{-1}$  DW) was identified in callus cultures.

The phytochemical composition and antioxidant activity differed between callus cultures and the *S. tatarica* plant. The plant showed a higher yield of phenolic compounds and greater antioxidant capacity. At the same time, *S. tatarica* callus cultures can be used as a source of phenolic compounds.

**Keywords:** *Silene tatarica*, callus cultures, flavonoids, phenolic compounds, phytoecdysteroids, antioxidant activity.

## ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПСАММОГАЛОКСЕРОФИТНОГО КУСТАРНИКА ЧЕРКЕЗА ПАЛЕЦКОГО ДЛЯ ОСВОЕНИЯ ПЕСКОВ В ЦЕНТРАЛЬНОАЗИАТСКОЙ ПУСТЫНЕ

Шамсутдинов Н. , Шамсутдинова Э.

Федеральный научный центр кормопроизводства и агроэкологии имени В.Р. Вильямса, г. Лобня  
[aridland@internet.ru](mailto:aridland@internet.ru)

Черкез Палецкого – *Salsola paletzkiana* Litv. – древовидный кустарник из сем. *Chenopodiaceae*.

**Морфологические особенности.** Сильно ветвистое, многоствольное растение с повисшими, очень тонкими и длинными, молочно-белыми, голыми и гладкими конечными ветвями. Более старые ветви со светло-буровато-серой корой. Древесина темного цвета. Размножается семенами. Листья очередные, полувальковатые, тонкие, сочные, линейные остроконечные, длиной 30-70 мм. Прицветковые листья того же типа, но меньшей длины. Доли околоцветника ланцетные, заостренные, темные, по краю узкопленчато-отороченные, голые, при плодах в центре сходятся пучком. Они светлого цвета, почти прозрачные, шелковисто-блестящие, развиваются в вееровидные крылья, которые вместе с околоплодником имеют в поперечнике 15-20 мм.

**Особенности онтогенеза.** Вегетировать начинает в середине – конце марта с отрастания тонких листьев, в мае – начале июня – цвести. Несколько позже, в июле, значительно уменьшается прирост вегетативной массы. В течение всего знойного лета находится в зеленом состоянии. Плодообразование происходит в сентябре, а созревание плодов – в октябре – ноябре. Продолжительность жизни зависит от условий произрастания. В культуре на 6-8-й год часть особей усыхает, а оставшиеся продолжают вегетировать и плодоносить. Продолжительность жизни растений в культуре составляет 18 лет, хотя жизнь ее популяции может быть более длительной за счет развития подраста.

**Экологические особенности.** Типичный псаммофит, ареал которого приурочен к песчаным пустыням Центральной Азии. Произрастает на закрепленных и полужакрепленных песках.

Имеет хорошо развитую, глубоко проникающую в почву корневую систему, достигающую уровня грунтовых вод или увлажненных почвогрунтовых слоев. Очень требователен к водно-солевому и воздушному режимам почв. В естественных условиях произрастает на опресненных почвах легкого механического состава. Как показали наши опыты, при культуре в полынно-эфемеровой пустыне с супесчано-щебенчатыми солонцеватыми почвами сероземного типа слоистого сложения в нижних горизонтах успешно растет и развивается, вступает в плодоношение со второго- третьего года жизни. Растения достигают высоты 3-5 м.

**Кормовая ценность и продуктивность.** Черкез Палецкого представляет хороший корм для овец, коз осенью и зимой, а для верблюдов в течение всего года. Поедаемыми частями являются тонкие веточки, листья, плоды. В них содержится 16.5-22.9% протеина, 2.4-4.0% жира, 38.3-43.1% БЭВ и 17.8-21.0% клетчатки. Наибольшая питательность корма летом – 45 корм. ед., а наименьшая весной – 25 корм. ед. в 100 кг сухой массы, осенью и зимой – соответственно

38 и 33 корм. ед. В условиях культуры отличается высокой кормовой продуктивностью. Урожай поедаемой массы составляет 0.25-0.6 т/га сухого веса.

**Перспективы использования.** Черкез Палецкого находит широкое применение в практике улучшения пастбищ в пустыне и полупустыне. В полынно-эфемеровой пустыне Карнабчуль (Узбекистан) высевается в смеси с саксаулом черным при создании пастбищезащитных полос, в Туркмении – в смеси с солянкой малолистой (*Halothamnus subaphyllus* (C.A. Mey.) Botsch.), полынью белой (*Artemisia lerceana* Weber ex Stechm.), эфемерами, саксаулом черным (*Haloxylon aphyllum* (Minkw.) Iljin). Создание смешанных искусственных пастбищ в предгорной полупустыне (возвышенность Бадхыз) обогащает растительность, позволяет получать высокие и устойчивые урожаи кормовой массы. Кроме того, используется при закреплении подвижных песков. Искусственные насаждения черкеза Палецкого могут служить семенными участками.

**Ключевые слова:** *Salsola paletzkiana*, кустарник, Центральная Азия, пастбища, фитомелиорация

PROSPECTS FOR THE PSAMMOGALOXEROPHYTIC SHRUB *SALSOLA PALETZKIANA*  
UTILIZATION FOR THE SANDS DEVELOPMENT IN THE CENTRAL ASIAN DESERT

Shamsutdinov N. , Shamsutdinova E.

*Federal Williams Research Center of Forage Production & Agroecology*  
[aridland@internet.ru](mailto:aridland@internet.ru)

*Salsola paletziana* Litv. – a tree-like shrub from the Chenopodiaceae family.

*Morphological features.* A strongly branched, multi-stemmed plant with drooping, very thin and long, milky-white, glabrous and smooth final branches. Older branches with light brownish-gray bark. The wood is dark in color, propagated by seeds. The leaves are alternate, semi-rolled, thin, juicy and linear pointed, 30-70 mm long. The bract leaves are of the same type, but shorter length. The perianth lobes are lanceolate, pointed, dark, narrowly filmy-edged along the edge, glabrous, with fruits converging in a bundle in the center. They are light in color, almost transparent, silky-shiny, develop into fan-shaped wings, which, together with the pericarp, are 15-20 mm across.

*Features of ontogenesis.* It begins to vegetate in mid – late March with the regrowth of thin leaves, in May – early June – to bloom. Somewhat later, in July, the growth of vegetative mass decreases significantly. It is in a green state throughout the sultry summer. Fruit formation occurs in September, and fruit ripening occurs in October – November. Life expectancy depends on the growing conditions. In culture, by the 6<sup>th</sup>-8<sup>th</sup> year, some of the individuals dry up, and the remaining ones continue to vegetate and bear fruit. The life expectancy of plants in a culture is 18 years, although the life of its population may be longer due to the development of undergrowth.

*Environmental features.* A typical psammophyte, its area is confined to the sandy deserts of Central Asia. It grows on fixed and semi-fixed sands.

It has a well-developed root system that penetrates deeply into the soil, reaching the level of groundwater or moistened soil layers. It is very demanding on the water-salt and air regimes of soils. In natural conditions, it grows on desalinated soils of light mechanical composition. As our experiments have shown, when cultivated in a wormwood-ephemeral desert with sandy loam-crushed stone soils of a gray-earth type of layered composition in the lower horizons, it successfully grows and develops, enters fruiting from the second to third year of life. The plants reach 3-5 m height.

*Feed value and productivity.* *Salsola paletziana* provides good food for sheep, goats in autumn and winter, and for camels throughout the year. The parts eaten are thin twigs, leaves, and fruits. They contain 16.5-22.9% protein, 2.4-4.0% fat, 38.3- 43.1% NFE and 17.8-21.0% fiber. The highest nutritional value of the feed in summer is 45 feed units, and the lowest in spring is 25 feed units per 100 kg of dry weight, in autumn and winter – 38 and 33 feed units, respectively. In the conditions of culture, it is characterized by high feed productivity. The yield of the eaten mass is 0.25-0.6 t/ha of dry weight.

*Prospects of use.* *Salsola paletziana* is widely used in the practice of improving pastures in the desert and semi-desert. In the wormwood-ephemeral desert of Karnabchul (Uzbekistan), it is sown in a mixture with black saxaul when creating pasture-protective strips, in Turkmenistan – in a mixture with *Halothamnus subaphyllus* (C.A. Mey.) Botsch., *Artemisia lercheana* Weber ex Stechm., *Haloxylon aphyllum* (Minkw.) Iljin., ephemeras. The creation of mixed artificial pastures in the foothill semi-desert of (the Badkhyz upland) enriches vegetation, allows for high and stable yields of fodder mass. In addition, it is used for fixing moving sands. Artificial plantings of *Salsola paletziana* can serve as seed plots.

*Keywords:* *Salsola paletziana*, shrub, Central Asia, pastures, phytomelioration



## ЭКОТИПИЧЕСКАЯ СЕЛЕКЦИЯ КОРМОВЫХ ГАЛОФИТОВ – ЭФФЕКТИВНЫЙ СПОСОБ ФОРМИРОВАНИЯ СОЛЕУСТОЙЧИВЫХ СОРТОВ ДЛЯ АРИДНЫХ УСЛОВИЙ ПРИКАСПИЯ

Шамсутдинова Э. З. , Санжеев В. В. , Нидюлин В. Н. , Шамсутдинов З. Ш.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Федеральный научный центр кормопроизводства и агроэкологии имени В.Р. Вильямса"  
[darplant@list.ru](mailto:darplant@list.ru)

В последние три десятилетия внимание ученых привлекает проблема изучения и использования галофитов для устойчивого развития жизнеспособного сельского хозяйства в аридных районах мира. Генетические ресурсы галофитов являются исходной базой для создания эдафически дифференцированных сортов кормовых растений. В настоящее время созданы первые сорта.

Сорт терескена серого (*Eurotia ceratoides* (L.) C.A.Mey) Очир.

*Морфологические особенности сорта.* Жизненная форма – полукустарник. Форма куста – полупрямостоячая, средняя кустистость – 40-45 побегов, облиственность – 45-50%. Высота полукустарника составляет от 55 до 75 см. Плоды: длина – 8,5 мм, ширина – 3,2 мм. Масса 1000 семян составляет от 4,4 до 4,6 г. Корневая система хорошо развита и проникает на глубину до 5-6 м. Длительновегетирующий сорт: вегетация с начала марта до конца октября составляет 225 дней, являясь источником высокобелкового и энергонасыщенного пастбищного корма.

*Экологические особенности.* Сорт терескена серого Очир – ксерогалофитное растение, характеризующееся высокой устойчивостью к засухе. Сорт отличается умеренной солетолерантностью: на засоленных почвах (100-150 ммоль NaCl), способен поддерживать нормальный уровень кормовой и семенной продуктивности.

*Хозяйственные характеристики.* Сорт создан на основе экотипической селекции из дикорастущих популяций терескена серого. Продуктивность сорта составила 1,6 т/га, превысив сорт-стандарт Фаворит на 35% по сухой кормовой массе, содержание протеина – 18-20%. Семенная продуктивность – 99,5 кг/га, что на 30% больше стандарта.

Сорт камфоросмы Лессинга (*Camphorosma lessingii* Litv) Кермен по жизненной форме полукустарничек семейства Chenopodiaceae.

*Морфологические признаки:* форма куста – полупрямостоячая, средняя высота – 46,3 см. Опушение стеблей – сильное, окраска узлов – светло-бордовая, среднее число междоузлий – 31,6, с колебанием от 20 до 47, кустистость в среднем – 52,3 побега. Листья: форма – шиловидная, опушение – среднее, окраска от темно зеленой до светло зеленой. Соцветие – метелка, длина метелки варьирует от 16 до 22 см.

*Экологические особенности.* Сорт камфоросмы Лессинга – галоксерофитное полукустарниковое растение, наряду с засухоустойчивостью, обладает повышенной устойчивостью к солевому стрессу. В условиях засоления почвы на уровне 130-220 ммоль NaCl, сорт способен пройти полный жизненный цикл и формировать нормальную кормовую и семенную продуктивность.

*Хозяйственные характеристики.* Сорт камфоросмы Лессинга выведен методом экотипической селекции. Сорт Кермен является отличным пастбищным кормом для овец, формирует достаточно высокий урожай кормовой массы и семян. В среднем за 3 года продуктивность составила 2,3 т/га сухой кормовой массы, превышая сорт-стандарт Алсу на 19,7%, с семенной продуктивностью – 120 кг/га, превышая стандарт на 54,1%.

Сорт камфоросмы Лессинга Кермен предназначен для создания высокопродуктивных, устойчиво функционирующих долголетних пастбищ для овец.

*Ключевые слова:* экотипическая селекция, кормовые галофиты, солеустойчивость, засухоустойчивость, аридная зона, Прикаспий.

## ECOTYPIC BREEDING OF FODDER HALOPHYTES IS AN EFFECTIVE WAY TO FORM SALT-RESISTANT VARIETIES FOR ARID CONDITIONS OF THE NEAR CIRCUM-CASPIAN SEA REGION

Shamsutdinova E. Z. , Sanzheev V. V. , Nidyulin V. N. , Shamsutdinov Z. S.

*Federal Williams Research Center of Forage Production & Agroecology*  
[darplant@list.ru](mailto:darplant@list.ru)

In the last three decades, the attention of scientists has been attracted to the problem of studying and using halophytes for the sustainable development of valuable agriculture in arid regions of the world. The genetic resources of halophytes are the starting point for the creation of edaphically differentiated varieties of forage plants. Currently, the first varieties have been created.

*Eurotia ceratoides* (L.) C.A.Mey Ochir variety.

*Morphological variety features.* The life form is a semi-shrub. The shape of the shrub is semi-erect, the average bushiness is 40-45 shoots, leafiness is 45-50%. The height of the semi-shrub ranges from 55 to 75 cm. Fruits: length – 8.5 mm, width – 3.2 mm. The weight of 1000 seeds ranges from 4.4 to 4.6 g. The root system is well developed and penetrates to a depth of 5-6 m. Long-growing variety: the vegetation period from the beginning of March to the end of October is 225 days, being a source of high-protein and energy-saturated pasture feed.

*Environmental features.* The *Ochir* variety is a xerohalophytic plant characterized by high resistance to drought. The variety is characterized by moderate salt tolerance: on saline soils (100-150 mmol NaCl), it is able to maintain a normal level of feed and seed productivity.

*Economic characteristics.* The variety was created on the basis of ecotypic breeding from wild populations. The productivity of the variety was 1.6 t/ha, exceeding the standard variety *Favorite* by 35% in dry fodder weight, protein content – 18-20%. The seed productivity is 99.5 kg/ha, which is 30% more than the standard.

The *Camphorosma lessingii* Litv. *Kermen* variety in the life form of a semi-shrub of the *Chenopodiaceae* family.

*Morphological features.* The shape of the shrub is semi-erect, the average height is 46.3 cm. The pubescence of the stems is strong, the color of the nodes is light maroon, the average number of internodes is 31.6, with a range from 20 to 47, the bushiness on average is 52.3 shoots. Leaves: awl-shaped, pubescence is medium, color from dark green to light green. The inflorescence is a panicle, the length of the panicle varies from 16 to 22 cm.

*Environmental features.* *Camphorosma lessingii* variety is a haloxerophytic semi-shrub plant, along with drought resistance, has increased resistance to salt stress. Under conditions of soil salinity at the level of 130-220 mmol NaCl, the variety is able to go through a full life cycle and form normal feed and seed productivity.

*Economic characteristics.* The *Camphorosma lessingii* variety was bred by ecotypic selection. The *Kermen* variety is an excellent pasture fodder for sheep, forming a fairly high yield of feed mass and seeds. On average, over 3 years, productivity amounted to 2.3 t/ha of dry feed mass, exceeding the *Alsu* standard variety by 19.7%, with seed productivity of 120 kg/ha, exceeding the standard by 54.1%. The *Camphorosma lessingii* *Kermen* variety is designed to create highly productive, sustainably functioning long-term pastures for sheep.

**Keywords:** ecotypic breeding, fodder halophytes, salt tolerance, drought tolerance, arid zone, the Near Circum-Caspian Sea Region.

## РАЗРАБОТКА СЪЕДОБНОЙ ВАКЦИНЫ НА ОСНОВЕ ТОМАТА

Шерматов Ш. , Камбурова В. , Усманов Д. , Убайдуллаева Х. , Буриев З. ,  
Абдурахмонов И.

Центр геномики и биоинформатики Академии наук Республики Узбекистана  
[sshermatov@hotmail.com](mailto:sshermatov@hotmail.com)

В настоящее время по данным ВОЗ для профилактики COVID-19 одобрено 11 вакцин для неограниченного использования, 9 — для ограниченного использования, 175 кандидатных вакцин находятся на стадии клинических испытаний, из которых 11 — на стадии 4 клинических испытаний, 6 — на стадии 3 клинических испытаний, 9 — на стадии 2 и 2/3 клинических испытаний, 45 — на стадии 1 и 1/2 клинических испытаний, и 199 — на стадии доклинических исследований. Для разработки вакцин против COVID-19 применяются все возможные платформы, однако наиболее часто используются вакцины на основе ДНК, мРНК и белковых субъединиц. Большинство используемых и разрабатываемых на данный момент вакцин является инъекционными, а также требуют особых условий транспортировки, хранения и применения. Несмотря на длительную историю применения, данные системы имеют высокую стоимость и низкую безопасность для окружающей среды.

Снижение недостатков производства и применения рекомбинантных вакцин от коронавируса может быть достигнуто за счет использования так называемых растительных съедобных вакцин. К преимуществам съедобных вакцин относят простота производства и масштабируемости, удобство транспортировки и хранения, пероральный способ использования. К недостаткам можно отнести тот факт, что для создания «съедобной» вакцины необходимо использовать культуры, употребляемые в пищу без тепловой обработки. Учитывая вышеизложенное, в данной работе предпринята попытка разработать съедобную вакцину против COVID-19 путем трансформации томатов.

Для получения иммуногена для иммунизации мышей был сконструирован вектор экспрессии *pART27*, кодирующий последовательность гена *S1*, полученная на основании секвенированных геномов *SARS-CoV-2*, циркулирующих в узбекской популяции. Созданным генетическим вектором была трансформирована суспензия *A. tumefaciens*. Селекцию трансформированных агробактерий осуществляли на селективной агаризованной среде YEP, содержащей антибиотики канамицин (50 мг/л), рифампицин (20 мг/л) и спектиномицин (50 мг/л). Успешность трансформации агробактерии составила 96%. Далее суспензией трансформированных агробактерий была осуществлена агроинфильтрация плодов томата. *In fruit* трансформацию томатов осуществляли по модифицированным методам *Yasmeen et al. (2021)* и *Orzaez et al. (2006)*, используя штамм *LB4404 A. tumefaciens*. При этом проведение инъекции плодов томата через верхушку столбика приводило к накоплению инфильтрационного раствора в центральной пластинке, плаценте и околоплоднике. Полученные из подвергнутых трансформации семян проростки были проверены на присутствие в геноме *pART27* вектора, содержащего последовательность гена *S1 SARS-CoV-2*. При этом было выявлено, что из 405 проростков ПЦР-положительными оказались 46.

Для подтверждения эффективности встраивания конструкции в геном томата был исследован уровень экспрессии гена *S1 SARS-CoV-2* у ПЦР-положительных образцов проростков томата. При этом было обнаружено, что из 8 ПЦР-положительных образцов у 6 образцов наблюдался значительный уровень экспрессии гена *S1 SARS-CoV-2*, что позволяет предположить наличие синтеза антигенного белка. Для подтверждения предположения о синтезе иммуногена в клетках томата был проведен ИФА-анализ. Результаты анализа показали, что в образцах, в которых наблюдалась экспрессия гена *S1 SARS-CoV-2*, был выявлен синтез белка *S1* в количестве от 3,55 мкг/мл до 14,1 мкг/мл.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют об успешной трансформации плодов томата вектором *pART27*, содержащим последовательность гена *S1 SARS-CoV-2*.

## DEVELOPMENT OF TOMATO-BASED EDIBLE VACCINE

Shermatov S. , Kamburova V. , Usmanov D. , Ubaydullaeva K. , Buriev Z. ,  
Abdurakhmonov I.

*The Center of Genomics and Bioinformatics of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan,  
Tashkent  
[sshermatov@hotmail.com](mailto:sshermatov@hotmail.com)*

According to the World Health Organization, there are currently 11 COVID-19 vaccines approved for unrestricted use, 9 approved for restricted use, and 175 candidate vaccines in various stages of clinical trials. Among these, 11 are in Phase 4 trials, 6 in Phase 3, 9 in Phase 2 and 2/3, 45 in Phase 1 and 1/2, and 199 in preclinical stages. All available vaccine platforms are being utilized, with DNA, mRNA, and protein subunit vaccines being the most common. Most vaccines in use and development are injectable and require specific conditions for transport, storage, and administration. Despite their long history, these systems are expensive and pose environmental safety concerns.

To mitigate the drawbacks associated with recombinant coronavirus vaccines, the use of so-called plant-based edible vaccines could be a viable alternative. The advantages of edible vaccines include ease of production and scalability, convenience in transportation and storage, and oral administration. However, a significant challenge is that edible vaccines must be produced using crops that can be consumed raw. This study aims to develop an edible vaccine against COVID-19 through the transformation of tomatoes.

An expression vector, *pART27*, encoding the *S1* gene sequence derived from the genomes of SARS-CoV-2 circulating in the Uzbek population, was constructed for generating the immunogen. This genetic vector was used to transform an *Agrobacterium tumefaciens* suspension. Selection of the transformed *Agrobacterium* was performed on selective YEP agar medium containing kanamycin (50 mg/l), rifampicin (20 mg/l), and spectinomycin (50 mg/l), achieving a transformation efficiency of 96%. Subsequently, the transformed *Agrobacterium* suspension was used for agroinfiltration of tomato fruits. Tomato transformation was carried out using modified methods from Yasmeen *et al.* (2021) and Orzaez *et al.* (2006) with the LB4404 strain of *A. tumefaciens*. Injection through the tomato fruit apex led to the accumulation of the infiltration solution in the central placenta and pericarp.

Seeds from the transformed tomatoes were germinated and analyzed for the presence of the *pART27* vector containing the *S1* gene sequence. Out of 405 seedlings, 46 were PCR-positive. To confirm the integration of the construct into the tomato genome, the expression level of the SARS-CoV-2 *S1* gene was assessed in PCR-positive seedlings. Among the 8 PCR-positive samples, 6 showed significant levels of *S1* gene expression, suggesting antigenic protein synthesis. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was performed to verify the synthesis of the immunogen in tomato cells. Results indicated that in samples expressing the *S1* gene, the *S1* protein was synthesized at concentrations ranging from 3.55 µg/ml to 14.1 µg/ml.

These results demonstrate the successful transformation of tomato fruits with the *pART27* vector containing the SARS-CoV-2 *S1* gene sequence.

## УЛУЧШЕНИЕ ПИТАТЕЛЬНОЙ ЦЕННОСТИ ЗЕРНА СОРГО С ПОМОЩЬЮ ТЕХНОЛОГИИ ГЕНОМНОГО РЕДАКТИРОВАНИЯ: АНАЛИЗ ПОТОМСТВА МУТАНТОВ С ПОВЫШЕННОЙ ПЕРЕВАРИВАЕМОСТЬЮ КАФИРИНОВ

Эльконин Л. А.<sup>1</sup>, Геращенко Г. А.<sup>2</sup>, Борисенко Н. В.<sup>1</sup>, Сарсенова С.Х.<sup>1</sup>, Панин В. М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральный аграрный научный центр Юго-Востока

<sup>2</sup>Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, г. Уфа  
[elkonin@gmail.com](mailto:elkonin@gmail.com)

Сайт-направленный мутагенез посредством генетических конструкций, несущих систему CRISPR/Cas, является эффективной технологией, активно используемой для решения самых разных задач генетики и селекции растений. Одной из таких задач является улучшение питательной ценности зерна сорго – высокоурожайной жаро- и засухоустойчивой злаковой культуры, приобретающей всё большее значение в условиях аридизации климата. Существенным недостатком сорго является низкая питательная ценность зерна, обусловленная, в том числе, устойчивостью его запасных белков – кафиринов – к протеолитическому расщеплению.

Нами ранее были созданы вектора (p1C, p2C) для индукции мутаций в одном из генов генного семейства, кодирующего синтез 25kDa  $\alpha$ -кафирина (k1C5), при этом в качестве мишени использовали нуклеотидную последовательность сигнального полипептида, ответственного за упаковку кафирина в белковые тельца клеток эндосперма, с тем расчетом, что индуцированная мутация нарушит данный процесс. Созданные вектора посредством агробактериальной трансформации были введены в геном сорго (сорт Аванс). В потомстве регенерированных растений (в поколении T<sub>1</sub>) были выявлены мутанты с улучшенной перевариваемостью кафиринов в системе *in vitro*.

Анализ поколения T<sub>2</sub>, выращенного в условиях опытного поля, показал, что у некоторых мутантов наблюдалось наследование более высокого уровня перевариваемости белков зерна. Так, в потомстве мутанта 2C-2.1.1 перевариваемость белков составляла 71%, а в потомстве мутанта 2C-1.2.5a – 84%, значительно превышая уровень перевариваемости у исходного сорта (58-60%;  $p > 0.05$ ). Растения из этих семей по основным селекционно-ценным признакам значимо не отличались от исходного сорта. Анализ текстуры эндосперма у некоторых растений из этих семей, а также у других мутантов из поколений T<sub>2</sub> и T<sub>3</sub> показал, что в метелках присутствовали как зерновки с нормально развитым стекловидным эндоспермом, характерным для исходного сорта, так и зерновки, у которых стекловидный слой отсутствовал и эндосперм был полностью мучнистым, либо был представлен тонким стекловидным слоем, либо вкраплениями стекловидного эндосперма. Перевариваемость белков из таких зерновок, как правило, была выше, чем у белков из зерновок со стекловидным эндоспермом, достигая, в некоторых случаях, 84-94%.

Как показало секвенирование кодирующей последовательности гена k1C5, у обоих мутантов (2C-1.2.5a и 2C-2.1.1) присутствовала одна и та же мутация: замена 23 нуклеотида F-цепи: T → C, что должно привести к замене кодирующего триплета CTC → CCC. Следствием этой мутации, по-видимому, стало замещение восьмой аминокислоты сигнального полипептида  $\alpha$ -кафирина, а именно, лейцина, алифатической гидрофобной аминокислоты, на пролин – гетероциклическую менее гидрофобную аминокислоту, вызывающую изгиб  $\alpha$ -спирали белка. Такая замена могла изменить структурные и функциональные свойства полипептида и, как следствие, характер депонирования  $\alpha$ -кафирина в белковых тельцах и, тем самым, повлиять на их перевариваемость.

Вместе с тем, в ряде семей T<sub>2</sub>, выявлены случаи нецелевого эффекта созданных генетических конструкций: выщепление низкорослых форм, мутантов с некрозом листьев и метелки, усилившемся в процессе онтогенеза, при этом соотношение нормальных растений и индивидуумов с некрозом соответствовало дигибриднему расщеплению 9:7 ( $\chi^2 = 0.672$ ;  $0.5 < p < 0.25$ ). В потомстве мутанта 2C-1.2.9 наблюдались растения с тонким стеблем (диаметр  $5.9 \pm 0.5$  см, в сравнении с  $8.4 \pm 0.4$  см у исходного сорта Аванс ( $p < 0.01$ )), сниженной массой 1000 зерен и сниженным урожаем зерна с метелки.

Исследования проведены при поддержке гранта РНФ №24-16-00063.

**Ключевые слова:** CRISPR/Cas, кафирины, перевариваемость *in vitro*, эндосперм, нецелевые мутации, сорго.

## Improvement of the nutritional value of sorghum grain using genome editing technology: analysis of the progeny of mutants with increased digestibility of kafirins

Elkonin L. A.<sup>1</sup>, Gerashchenkov G. A.<sup>2</sup>, Borisenko N. V.<sup>1</sup>, Sarsenova S. K.<sup>1</sup>, Panin V. M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Federal Centre of Agriculture Research of the South-East Region

<sup>2</sup> Institute of Biochemistry & Genetics UFRC RAS, Ufa

[lelkonin@gmail.com](mailto:lelkonin@gmail.com)

Site-directed mutagenesis using genetic constructs carrying the CRISPR/Cas system is an effective technology that is actively used to solve a variety of problems in plant genetics and breeding. One of these problems is improving the nutritional value of sorghum grain, a high-yielding, heat- and drought-tolerant cereal crop that is becoming increasingly important in the conditions of climate aridization. A significant disadvantage of sorghum is a low nutritional value of the grain, due, among other things, to the resistance of its storage proteins, kafirins, to proteolytic digestion.

We have previously created vectors (p1C, p2C) for inducing mutations in one of the genes of the gene family encoding the synthesis of the 25kDa  $\alpha$ -kafirin (*k1C5*), using as a target the nucleotide sequence of the signal polypeptide responsible for packaging kafirins into protein bodies of endosperm cells, with the expectation that the induced mutation would disrupt this process. Using *Agrobacterium*-mediated genetic transformation we introduced these constructs into genome of the grain sorghum cultivar Avans. In the progeny of regenerated plants (in the T<sub>1</sub> generation), mutants with improved *in vitro* protein digestibility were identified.

Analysis of the T<sub>2</sub> generation grown in the experimental field conditions showed that some mutants inherited a higher level of grain protein digestibility. Thus, in the progeny of the 2C-2.1.1 mutant, protein digestibility was 71%, and in the progeny of the 2C-1.2.5a mutant it was 84%, significantly exceeding the level of protein digestibility of the original cultivar (58-60%;  $p < 0.05$ ). Plants from these families did not differ significantly from the original cultivar in the main agronomically-valuable traits.

Analysis of the endosperm texture in some plants from the T<sub>2</sub> and T<sub>3</sub> of these mutants showed that there were kernels with different endosperm types: with normally developed vitreous endosperm which is peculiar to the original cultivar, with floury endosperm completely devoid of the vitreous layer, or kernels with a thin vitreous layer, or with inclusions of sectors of vitreous endosperm into the floury one. The digestibility of proteins from such kernels was generally higher than that of proteins from kernels with vitreous endosperm, reaching, in some cases, 84-94%.

Sequencing of the coding sequence of the *k1C5* gene showed that both mutants (2C-1.2.5a and 2C-2.1.1) had the same mutation: replacement of 23<sup>rd</sup> nucleotide in the F-chain: T  $\rightarrow$  C, which should lead to the replacement of the coding triplet CTC $\rightarrow$ CCC. The consequence of this mutation, apparently, was the replacement of the eighth amino acid of the signal polypeptide of  $\alpha$ -kafirin, namely, leucine, an aliphatic hydrophobic amino acid, with proline, a heterocyclic less hydrophobic amino acid that causes the bending of the protein  $\alpha$ -helix. Such a replacement could change the structural and functional properties of the polypeptide and, as a consequence, the deposition of  $\alpha$ -kafirin in the protein bodies and, thereby, affect their digestibility.

At the same time, in a number of T<sub>2</sub> families, cases of non-target effects of the created genetic constructs were observed: appearance of the mutants with reduced plant height, with necrosis of leaves and panicles, which increased during ontogenesis, segregation ratio of normal plants and individuals with necrosis fit to 9:7 digenic ratio ( $\chi^2 = 0.672$ ;  $0.5 < p < 0.25$ ). In the progeny of the mutant 2C-1.2.9, plants with a thin stem (diameter  $5.9 \pm 0.5$  cm, compared with  $8.4 \pm 0.4$  cm in the original variety Avans ( $p < 0.01$ )), reduced 1000 grains weight and reduced grain yield per panicle were observed.

The research was supported by the Russian Science Foundation, grant No. 24-16-00063.

**Keywords:** CRISPR/Cas, kafirins, *in vitro* digestibility, endosperm, off-target mutations, sorghum.

*Электронное научное издание*

GenBio2024

IV Международной научно-практической конференции  
«Геномика и современные биотехнологии в размножении, селекции и сохранении растений»

*Материалы конференции*

Верстка сборника  
Водясова Е. А., Синченко А. В., Ушпе В. А.

Дизайн обложки  
Баяндина Ю. С.

ФГБУН «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный  
научный центр РАН»

298648, Россия, г. Ялта, пгт. Никита, ул. Никитский спуск, 52

[www.nbgncs.ru](http://www.nbgncs.ru)