



Государственное научное учреждение
«Институт генетики и цитологии
Национальной академии наук Беларуси»

Общественное объединение
«Белорусское общество генетиков
и селекционеров»

МАТЕРИАЛЫ КОНФЕРЕНЦИИ

**V Международная научная конференция
«Генетика и биотехнология XXI века:
проблемы, достижения, перспективы»**

г. Минск

21-25 ноября 2022 г.

«Институт генетики и цитологии
Национальной Академии Наук Беларуси»

Общественное объединение
«Белорусское общество генетиков и селекционеров»

V Международная научная конференция

**«ГЕНЕТИКА И БИОТЕХНОЛОГИЯ XXI ВЕКА:
ПРОБЛЕМЫ, ДОСТИЖЕНИЯ, ПЕРСПЕКТИВЫ»**
посвященная 135-летию со дня рождения Н. И. Вавилова

Материалы конференции

21–25 ноября 2022 г.

Минск, 2022

Рецензенты:

Р. И. Шейко, член-корреспондент, д. с.-х. н., профессор
ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»

Н. И. Дубовец, член-корреспондент, д. б. н.
ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»

И. Б. Моссэ, д. б. н., профессор
ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»

П. М. Морозик, к. б. н., доцент
ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»

Е. В. Гузенко, к. б. н.
ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»

О. Г. Левданский, к. б. н.
ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»

Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы: материалы V Международной научной конференции посвященной 135-летию со дня рождения Н. И. Вавилова. Минск, 21–25 ноября 2022 г. / редкол.: А. В. Кильчевский и др.; Институт генетики и цитологии НАН Беларуси. – Минск, 2022. – 179 с. – ISBN 978-985-90552-7-0

В сборник включены материалы V Международной научной конференции посвященной 135-летию со дня рождения Н. И. Вавилова.

Основные направления работы конференции:

1. Генетика, биотехнология и селекция растений.
2. Генетика, биотехнология и селекция животных.
3. Генетика человека, медицинская и спортивная генетика.
4. Биоинформатика. Метагеномика.

Тексты публикуются в авторской версии без редакционных изменений.

МЕЖДУНАРОДНЫЙ КОМИТЕТ

Зиновьева Н. А., академик РАН, Российская Федерация
Инге-Вечтомов С. Г., академик РАН, Российская Федерация
Кильчевский А. В., академик НАН Беларуси, Республика Беларусь
Колчанов Н. А., академик РАН, Российская Федерация
Кочетов А. В., академик РАН, Российская Федерация
Раманкулов Е. М., академик КазНАЕН, Республика Казахстан
Тихонович И. А., академик РАН, Российская Федерация
Хлёткина Е. К., доктор биологических наук, Российская Федерация
Хотылёва Л. В., академик НАН Беларуси, Республика Беларусь
Шейко Р. И., член-корреспондент НАН Беларуси, Республика Беларусь
Янковский Н. К., академик РАН, Российская Федерация

ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ

Шейко Р. И., член-корреспондент НАН Беларуси, директор Института генетики и цитологии НАН Беларуси (председатель)
Кильчевский А. В., академик НАН Беларуси (сопредседатель)
Хотылёва Л. В., академик НАН Беларуси (сопредседатель)
Гриб С. И., академик НАН Беларуси
Привалов Ф. И., академик НАН Беларуси
Шейко И. П., академик НАН Беларуси
Баранов О. Ю., член-корреспондент НАН Беларуси
Давыденко О. Г., член-корреспондент НАН Беларуси
Демидчик В. В., член-корреспондент НАН Беларуси
Дубовец Н. И., член-корреспондент НАН Беларуси
Падутов В. Е., член-корреспондент НАН Беларуси
Евтушенков А. Н., доктор биологических наук
Максимова Н. П., доктор биологических наук
Моссэ И. Б., доктор биологических наук
Гузенко Е. В., кандидат биологических наук (заместитель председателя)
Кубрак С. В., кандидат биологических наук (секретарь БОГиС)
Морозик П. М., кандидат биологических наук
Середа А. Л., ведущий маркетолог

СОДЕРЖАНИЕ

Генетика, биотехнология и селекция растений 16

С. Ш. Абдирахимова, С. Г. Шеримбетов, Р. С. Мухамедов

ВАЖНЫЕ ВОПРОСЫ РАЗМНОЖЕНИЯ НОВЫХ ФОРМ *LYCIUM RUTHENICUM* MURR.
В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*, ПРИСПОСОБЛЕННЫХ РАСТИ В РАЗЛИЧНЫХ СТРЕССОВЫХ
УСЛОВИЯХ АРАЛКУМА 17

Е. Л. Андроник, Е. В. Иванова

ИЗУЧЕНИЕ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ОБРАЗЦОВ ЛЬНА МАСЛИЧНОГО ПО ОСНОВНЫМ
ХОЗЯЙСТВЕННО ЦЕННЫМ ПРИЗНАКАМ 18

Е. Л. Андроник, Е. В. Иванова, Д. А. Батюков

ДЕЙСТВИЕ N-НИТРОЗОЭТИЛМОЧЕВИНЫ И N-НИТРОЗОМЕТИЛМОЧЕВИНЫ НА ВСХОЖЕСТЬ
И ВЫЖИВАЕМОСТЬ РАСТЕНИЙ ЛЬНА МАСЛИЧНОГО В М1 19

Н. В. Анисимова, О. Г. Бабак, Н. А. Некрашевич, А. В. Кильчевский

СОЗДАНИЕ НОВЫХ ФОРМ ПЕРЦА *CAPSICUM ANNUUM* С КОМПЛЕКСОМ ГЕНОВ КАЧЕСТВА
И УСТОЙЧИВОСТИ К БОЛЕЗНЯМ 20

Д. Б. Баракаева, Н. И. Мукаррамов, С. Ф. Арипова

ОПРЕДЕЛЕНИЕ В СМОЛЕ *FERULA TADSHIKORUM* МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ
ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ ФЕРУЛОВОЙ КИСЛОТЫ 21

Г. К. Батыру, Г. Е. Комарова, А. Н. Адамчук, А. И. Ротарь, С. Н. Боунегру, Е. А. Ротарь

НОВЫЕ ПОДХОДЫ В МОДЕЛИРОВАНИИ ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКИХ ПАСПОРТОВ ГИБРИДОВ
КУКУРУЗЫ И ИХ РОДИТЕЛЬСКИХ ЛИНИЙ 22

А. Бекбаева, Е. В. Жолдыбаева, А. Амиргазин, А. Б. Шевцов, Б. Б. Хасенов

ПОЛНЫЙ МИТОХОНДРИАЛЬНЫЙ ГЕНОМ *CAPREOLUS PYGARGUS* — ОХРАНЯЕМОГО
И ИСЧЕЗАЮЩЕГО ВИДА В КАЗАХСТАНЕ 23

С. Н. Белов

РАЗРАБОТКА ЭЛЕМЕНТОВ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ УДВОЕННЫХ ГАПЛОИДОВ ОГУРЦА
(*CUCUMIS SATIVUS* L.) МЕТОДОМ ГИНОГЕНЕЗА 24

П. А. Борозан, С. И. Мустяца, А. Г. Спыну, В. Г. Спыну, М. Ю. Статник

ВЛИЯНИЕ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР НА ВСХОДЫ СЕМЯН РАННЕСПЕЛЫХ ЛИНИЙ КУКУРУЗЫ 25

В. Н. Буштевич, С. И. Гриб, Е. И. Позняк

ГЕНОФОНД ТРИТИКАЛЕ ОЗИМОГО В БЕЛАРУСИ И РЕЗУЛЬТАТЫ ОЦЕНКИ ЕГО
СЕЛЕКЦИОННОЙ ЦЕННОСТИ 26

Е. В. Воронкова, О. Н. Гукасян, В. М. Жарич, А. С. Агеева, А. П. Ермишин

ВИДОСПЕЦИФИЧЕСКИЕ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫЕ ЛОКУСЫ *SOLANUM STOLONIFERUM* И ЕГО
СУБГЕНОМОВ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ДИКОГО ВИДА
В МЕЖВИДОВЫХ ГИБРИДАХ 27

И. С. Гордей, О. М. Люсиков, Е. Б. Бондаревич, А. В. Соколюк

ГЕНЕТИКО-СЕЛЕКЦИОННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТЕТРАПЛОИДОВ ЯЧМЕНЯ
(*HORDEUM VULGARE* L.), СОЗДАННЫХ МЕТОДОМ ПОЛИПЛОИДИЗАЦИИ ЗАКИСЬЮ
АЗОТА (N₂O) В ЗИГОТЕ 28

С. И. Гордей, Э. П. Урбан, Д. Ю. Артюх

РЕЗУЛЬТАТЫ СЕЛЕКЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ВОЗДЕЛЫВАНИЯ ГИБРИДОВ F₁ ОЗИМОЙ РЖИ
В БЕЛАРУСИ 29

Д. М. Даминова ПРЕОДОЛЕНИЕ НЕСОВМЕСТИМОСТИ У ГИБРИДОВ ХЛОПЧАТНИКА	30
Е. А. Джос, О. Н. пышная, М. А. Филюшин ОЦЕНКА ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА ПЕРЦА КЛАССИЧЕСКИМИ И МОЛЕКУЛЯРНЫМИ МЕТОДАМИ В СЕЛЕКЦИИ НА КАЧЕСТВО	31
Е. В. Дрозд, Н. А. Некрашевич, Н. В. Анисимова, К. К. Яцевич, А. В. Кильчевский СОЗДАНИЕ НОВОГО СЕЛЕКЦИОННОГО МАТЕРИАЛА ТОМАТА С ВЫСОКИМИ АНТИОКСИДАНТНЫМИ СВОЙСТВАМИ	32
Е. В. Дубина, Ю. А. Макуха, С. О. Корж, С. А. Лесняк, О. Л. Горун, Е. И. Овод ДНК-ТЕХНОЛОГИИ В СЕЛЕКЦИИ РИСА И ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР	33
Н. И. Дубовец, В. Е. Шимко, Е. Б. Бондаревич, С. И. Гордей СКРИНИНГ ГЕНОФОНДА ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ НА АЛЛЕЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ГЛАВНЫХ ЛОКУСОВ ТОЛЕРАНТНОСТИ К ХОЛОДУ	34
Н. Г. Дуплий, А. В. Усатов ДЕЙСТВИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНО-НАПРАВЛЕННОГО АНТИОКСИДАНТА SKQ3 НА СКОРОСТЬ РОСТА ЯЧМЕНЯ В УСЛОВИЯХ ЗАСУХИ И ПОВЫШЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ ОКСИДА ЦИНКА	35
Н. А. Еловская, В. В. Николайчук, Ж. Н. Калацкая ВЛИЯНИЕ КОНЬЮГАТА ХИТОЗАН-ФЕРУЛОВАЯ КИСЛОТА НА РОСТ И РАЗВИТИЕ МИКРОКЛОНОВ КАРТОФЕЛЯ В КУЛЬТУРЕ <i>IN VITRO</i> ПРИ ОСМОТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ	36
А. П. Ермишин, Г. И. Пендинен, А. С. Агеева, В. И. Лукша, А. В. Левый, Е. В. Воронкова, О. Н. Гукасян, В. М. Жарич, Т. А. Гавриленко ПЕРЕНОС ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА СУБГЕНОМА В <i>S. STOLONIFERUM</i> В ГЕНОМ КУЛЬТУРНОГО КАРТОФЕЛЯ ПРИ БЕККРОССИРОВАНИИ МЕЖВИДОВЫХ ГИБРИДОВ	37
А. Н. Заинчковская, Е. А. Фомина, Л. В. Гончарова, П. А. Пашкевич, Л. С. Сидор ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ОБРАЗЦОВ ДЕРЕВЬЕВ РОДА <i>MALUS</i> СТАРОГО ПЛОДОВОГО САДА ЦЕНТРАЛЬНОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА НАН БЕЛАРУСИ ПРИ ПОМОЩИ SSR МАРКЕРОВ, ОГРАНИЧИВАЮЩИХ ТЕТРАНУКЛЕОТИДНЫЕ ПОВТОРЫ	38
Т. В. Заячковская ИНДУКЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ СЕМЯПОЧЕК ОГУРЦА (<i>CUCUMIS SATIVUS</i> L.) В ЗАВИСИМОСТИ ОТ КОНЦЕНТРАЦИИ НИТРАТА СЕРЕБРА И ТИПА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ В КУЛЬТУРЕ НЕОПЛОДОТВОРЕННЫХ СЕМЯПОЧЕК <i>IN VITRO</i>	39
С. И. Ивановская, С. В. Пантелеев АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА ДНК-ЛОКУСОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ДЛИНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗНОГО ВОЛОКНА СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ	40
О. П. Кибальник ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЦМС-ЛИНИЙ СОРГО НА ОСНОВЕ РАЗНЫХ ТИПОВ СТЕРИЛЬНОСТИ В СЕЛЕКЦИИ ЗАСУХОУСТОЙЧИВЫХ ГИБРИДОВ	41
А. В. Кильчевский, В. А. Лемеш, А. А. Булойчик СОЗДАНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ОБРАЗЦОВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР ДЛЯ ФОРМИРОВАНИЯ НОВОГО ГЕНОФОНДА ДОНОРОВ ХОЗЯЙСТВЕННО ЦЕННЫХ ПРИЗНАКОВ В ЦЕЛЯХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В СЕЛЕКЦИИ	42
А. В. Колубако, Е. В. Шруб, Р. С. Иванов, Г. Р. Кудоярова, Е. А. Николайчик НЕКРОТРОФНЫЙ ПАТОГЕН <i>PESTOBACTERIUM VERSATILE</i> ВЫЗЫВАЕТ СНИЖЕНИЕ КОЛИЧЕСТВ АБСЦИЗОВОЙ КИСЛОТЫ В РАСТЕНИЯХ СЕМЕЙСТВА ПАСЛЕНОВЫЕ ПРИ ЗАРАЖЕНИИ	43

А. В. Константинов, М. Я. Острикова, Е. Н. Полевинова, Н. В. Осипенко РАЗРАБОТКА ПРИЕМОМ ОМОЛОЖЕНИЯ КУЛЬТУР ТКАНЕЙ БЫСТРОРАСТУЩИХ ДРЕВЕСНЫХ ПОРОД ПРИ ДЕПОНИРОВАНИИ В КОЛЛЕКЦИИ <i>IN VITRO</i>	44
П. И. Костылев ИЗУЧЕНИЕ ОБРАЗЦОВ РИСА ПО ЭНЕРГИИ РОСТА И ТОЛЕРАНТНОСТИ К ДЛИТЕЛЬНОМУ ЗАТОПЛЕНИЮ	45
А. М. Кривецкая, В. С. Остапчик, А. Н. Островская, Н. И. Дробот, Г. В. Мозгова ДЕТЕКЦИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИ-МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЛИНИЙ РАПСА	46
П. В. Кузмицкая, Е. С. Королева АНАЛИЗ ПРОМОТОРНЫХ ОБЛАСТЕЙ ГЕНОВ ЯБЛОНИ, КОДИРУЮЩИХ КАЛЬМОДУЛИН-СВЯЗЫВАЮЩИЕ АКТИВАТОРЫ ТРАНСКРИПЦИИ	47
П. В. Кузмицкая, Е. С. Королева ОЦЕНКА ПРОФИЛЕЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ЯБЛОНИ, КОДИРУЮЩИХ ТРАНСКРИПЦИОННЫЕ ФАКТОРЫ СЕМЕЙСТВА <i>TRIMELIX</i>	48
С. А. Кулиш, Л. И. Сапунова СОВМЕСТНОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ДРОЖЖЕВЫХ ГРИБОВ КАК ОСНОВА ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЙ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ КОМПЛЕКСНОГО ДЕЙСТВИЯ	49
К. Ч. Курбанов, С. Ш. Абдирахимова, Г. И. Аманова, Р. С. Мухамедов, Е. В. Никитина <i>NITRARIA SCHOBERI</i> И <i>LYCIUM RUTHENICUM</i> , КАК ИСТОЧНИК ГЕНОВ СОЛЕУСТОЙЧИВОСТИ	50
Е. В. Лагуновская, А. А. Булойчик, В. И. Сакович, В. Н. Буштевич, С. И. Гриб ОПРЕДЕЛЕНИЕ АЛЛЕЛЬНОГО СОСТАВА ГЕНОВ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ КАЧЕСТВО ЗЕРНА У ПШЕНИЦЫ И ТРИТИКАЛЕ, С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕХНОЛОГИИ <i>KASP</i>	51
В. А. Лемеш, В. Н. Кипень, Г. В. Мозгова, А. А. Буракова, Л. В. Хотылёва ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ В ОТВЕТ НА ХОЛОДОВОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ У СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР СЕМЕЙСТВА <i>BRASSICACEAE</i>	52
В. А. Лемеш, М. С. Парфенчик, В. И. Сакович УСТАНОВЛЕНИЕ НАСЛЕДОВАНИЯ ИНСЕРЦИИ <i>LIS-1</i> У СТАРОДАВНИХ ОБРАЗЦОВ ЛЬНА-ДОЛГУНЦА (<i>LINUM USITATISSIMUM</i> L.) ПЦР-МЕТОДОМ	53
Т. С. Маркевич ПОПУЛЯЦИОННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ <i>PICEA ABIES</i> НА ТЕРРИТОРИИ БЕЛАРУСИ	54
А. Ш. Махкамов, В. Д. Митюков, А. В. Усатов РАЗРАБОТКА ДНК МАРКЕРОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФЕРТИЛЬНЫХ И СТЕРИЛЬНЫХ РАСТЕНИЙ ЛУКА РЕПЧАТОГО (<i>Allium cepa</i> L.)	55
Г. В. Мирская, Ю. В. Хомяков, Н. А. Рушина, В. Е. Вертебный, Е. П. Чижевская, В. Н. Пищик ОТЗЫВЧИВОСТЬ СКОРОСПЕЛЫХ ГЕНОТИПОВ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ (<i>TRITICUM AESTIVUM</i> L.) НА ИНОКУЛЯЦИЮ <i>BACILLUS SP. 2026</i>	56
Л. В. Можаровская, П. С. Кирьянов СКРИНИНГ ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С АНАТОМИЧЕСКИМИ ПРИЗНАКАМИ ДРЕВЕСИНЫ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (<i>PINUS SYLVESTRIS</i> L.)	57

М. О. Моисеева, Т. В. Никонович, Н. В. Дыдышко СОЗДАНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА НОВОГО СОРТА ПОЛУОСТРОГО ПЕРЦА БЕЛОРУССКОЙ СЕЛЕКЦИИ	58
Б. Б. Наджодов, В. С. Рубец ХАРАКТЕРИСТИКА ЛИНИЙ МЯГКОЙ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ СЕЛЕКЦИИ СИММУТ ПО ВЕГЕТАЦИОННОМУ ПЕРИОДУ В УСЛОВИЯХ ЦЕНТРАЛЬНОГО РАЙОНА НЕЧЕРНОЗЕМНОЙ ЗОНЫ РОССИИ	59
Е. В. Никитина, Н. В. Савина, С. В. Кубрак ОЦЕНКА ВИДОВОГО РАЗНООБРАЗИЯ РАСТЕНИЙ (LAMIACEAE) В УЗБЕКИСТАНЕ С ПРИМЕНЕНИЕМ ТЕХНОЛОГИИ ДНК-ШТРИХКОДИРОВАНИЯ	60
Т. В. Никонович, А. В. Константинов ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ МОРФОГЕНЕЗА ТОМАТА В УСЛОВИЯХ <i>IN VITRO</i> ПРИ РАЗЛИЧНОМ СВЕТОДИОДНОМ ОСВЕЩЕНИИ	61
В. В. Опимах, Т. В. Печковская ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПРИРОДЫ ПРИЗНАКА ОДНОСЕЯННОСТИ ИСХОДНЫХ ЛИНИЙ СВЕКЛЫ СТОЛОВОЙ	62
О. А. Орловская, С. И. Вакула, Л. В. Хотылёва, А. В. Кильчевский АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ЗЕРНА ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ С ИНТРОГРЕССИЯМИ ЧУЖЕРОДНОГО ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА	63
А. В. Падутов, М. П. Кусенкова СОМАКЛОНАЛЬНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ КЛОНОВ ЕЛИ ЕВРОПЕЙСКОЙ ПРИ СОМАТИЧЕСКОМ ЭМБРИОГЕНЕЗЕ	64
В. Е. Падутов, С. И. Ивановская, Д. И. Каган ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ СОСНЯКОВ БЕЛАРУСИ: ВЛИЯНИЕ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ НА ИХ УРОВЕНЬ	65
С. В. Пантелеев, И. А. Хархасова, А. В. Константинов, М. Я. Острикова, Л. О. Иващенко, В. А. Ярмолович, О. Ю. Баранов МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА МИКОРИЗООБРАЗУЮЩЕЙ МИКРОФЛОРЫ СОСНЫ И ЕЛИ В ЛЕСНЫХ ПИТОМНИКАХ И КУЛЬТУРАХ	66
Т. В. Печковская, О. С. Провоторова, А. Я. Хлебородов, Л. В. Хотылёва, А. В. Кильчевский ВЫЯВЛЕНИЕ СВЯЗИ МЕЖДУ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ПЕРОНОСПОРОЗУ ЛИНИЙ ОГУРЦА ПОСЕВНОГО И НАЛИЧИЕМ В НИХ ОПРЕДЕЛЕННЫХ ЛОКУСОВ ГЕНОМА	67
Ж. С. Пилипенко, С. И. Гриб ОЦЕНКА АДАПТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА УРОЖАЙНОСТИ ЗЕРНА СОРТООБРАЗЦОВ КОЛЛЕКЦИИ ЯРОВОГО ТРИТИКАЛЕ	68
Д. К. Рашидова, Д. М. Даминова СОСТОЯНИЕ ОРГАНИЧЕСКОГО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА В УЗБЕКИСТАНЕ	69
О. В. Романова ГИНОГЕННАЯ ОТЗЫВЧИВОСТЬ СЕМЯПОЧЕК ОГУРЦА (<i>CUCUMIS SATIVUM</i> L.) В КУЛЬТУРЕ <i>IN VITRO</i> ПРИ РАЗНОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ САХАРОЗЫ В СОСТАВЕ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ	70
Е. А. Ротарь, М. В. Дрегля МОДЕЛЬ СОРТА ЗЕРНОВОГО СОРГО В УСЛОВИЯХ НОВЫХ ЭКОНОМИЧЕСКИХ РЕАЛИЙ	71

Н. В. Савина, С. В. Кубрак, Л. В. Милько, В. Н. Тихомиров, М. А. Джус, З. Е. Грушецкая, А. И. Пацевич, А. В. Кильчевский ИЗМЕНЧИВОСТЬ ВОДЯНОГО ОРЕХА (<i>TRAPA NATANS</i> L. s.l.) ФЛОРЫ БЕЛАРУСИ ПО МАРКЕРУ <i>ITS2</i>	72
А. Т. Садиков КОРРЕЛЯЦИОННЫЙ АНАЛИЗ КОМПОНЕНТОВ ПРОДУКТИВНОСТИ РАСТЕНИЙ ХЛОПЧАТНИКА В УСЛОВИЯХ РЕСПУБЛИКИ ТАДЖИКИСТАН	73
М. Г. Синявская, В. В. Александрович, Е. А. Мишук, П. В. Пашкевич, О. П. Шатарнов, Е. А. Аксенова, О. Г. Давыденко СРАВНИТЕЛЬНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ГЕНОМОВ ОРГАНЕЛЛ СОИ <i>GLYCINE MAX</i> L. (НА ПРИМЕРЕ КОЛЛЕКЦИИ РАННЕСПЕЛЫХ СОРТОВ)	74
Е. В. Смирнова, Т. А. Базанов, Н. Н. Логинова, П. Д. Михайлова ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФНОСТИ СОРТОВ РЫЖИКА ПОСЕВНОГО (<i>Camelina sativa</i>) С ПОМОЩЬЮ SSR- И ISSR-МАРКЕРОВ	75
А. В. Соколюк, Н. И. Дубовец ИЗМЕНЧИВОСТЬ ХЛОРОПЛАСТНОГО ГЕНОМА ГЕКСАПЛОИДНЫХ ПШЕНИЧНО-РЖАНЫХ ГИБРИДОВ ($\times$ <i>TRITICOSECALE</i> WITTM.)	76
Л. В. Сухарева, О. В. Чухина ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОПРЕПАРАТОВ ПРИ ВОЗДЕЛЫВАНИИ СОРГО САХАРНОГО	77
Я. П. Тукусер ВЛИЯНИЕ СПОСОБОВ ВВЕДЕНИЯ В КУЛЬТУРУ <i>IN VITRO</i> НЕОПЫЛЕННЫХ СЕМЯПОЧЕК ОГУРЦА (<i>CUCUMIS SATIVUS</i> L.)	78
Е. А. Фомина, А. Н. Заинчковская, О. Ю. Урбанович ИЗУЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ ДЕГИДРИНЫ, В КОЛЛЕКЦИИ СОРТОВ ОЗИМОЙ И ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ (<i>TRITICUM AESTIVUM</i> L.)	79
И. С. Черней, В. Т. Чещевик ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА И ПРОТИВООКИСЛИТЕЛЬНЫХ СВОЙСТВ ЭФИРНОГО МАСЛА <i>ARTEMISIA ABSINTHIUM</i>	80
Н. Г. Черткова ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГИБРИДНЫХ ФОРМ РИСА С ГЕНАМИ УСТОЙЧИВОСТИ К ДЛИТЕЛЬНОМУ ЗАТОПЛЕНИЮ	81
В. Чобану, А. Сердешнюк ИНТЕНСИВНОСТЬ ВЫБРАСЫВАНИЯ ПЫЛЬНИКОВ У СТЕРИЛЬНЫХ РАСТЕНИЙ МАТЕРИНСКИХ ФОРМ ГИБРИДОВ КУКУРУЗЫ	82
Е. К. Шематорова, Г. В. Шпаковский ЭВОЛЮЦИОННЫЕ ТРАЕКТОРИИ ДВУХ ПУТЕЙ СТЕРОИДНОЙ ГОРМОНАЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ	83
В. Е. Шимко, И. С. Гордей, О. С. Матиевская, Э. П. Урбан, С. И. Гордей, Д. Ю. Артюх ИССЛЕДОВАНИЕ САМОФЕРТИЛЬНЫХ ЛИНИЙ КАК НОВЫХ ИСТОЧНИКОВ ЦЕННЫХ ПРИЗНАКОВ ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ ГИБРИДНЫХ СОРТОВ РЖИ (<i>SECALE CEREALE</i> L.)	84
А. М. Шишлова-Соколовская, Е. П. Хмилевская, О. Ю. Урбанович CRISPR/CAS9-ОПОСРЕДОВАННЫЙ НАПРАВЛЕННЫЙ МУТАГЕНЕЗ В ГЕНОМЕ <i>NICOTIANA TABACUM</i>	85

К. К. Яцевич, Е. В. Дрозд, Н. В. Анисимова, О. Г. Бабак, А. В. Кильчевский НОВЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА <i>GOLDEN 2-LIKE (GLK)</i> , ДЕТЕРМИНИРУЮЩЕГО СИНТЕЗ И РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПИГМЕНТОВ В ПЛОДАХ ТОМАТА	86
P. Borozan, S. Musteața, A. Spînu, V. Spînu, M. Statnic GENETIC IMPROVEMENT OF EARLY MAIZE IN MOLDOVA	87
D. N. Jamalova MICROCLONAL REPRODUCTION OF RARE AND ENDANGERED SPECIES OF THE GENUS <i>FERULA</i> L. IN UZBEKISTAN	88
S. A. Usmanov, K. O. Khudarganov, M. M. Abdullaeva CHARACTERISTICS OF FAMILY LONG STAPLE COTTON G.BARBADENSE L.	89
Генетика, биотехнология и селекция животных	90
С. С. Баротов, Ш. Д. Саидмурадов, Ф. Ю. Насырова ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ВИДОВОГО СОСТАВА МЯСА В КОЛБАСНЫХ ИЗДЕЛИЯХ	91
Е. В. Белая, И. С. Бейшова, А. С. Бабенко, А. М. Ковальчук ПОЛНОГЕНОМНЫЙ ПОИСК АССОЦИАЦИЙ С ФЕНОТИПИЧЕСКИМИ ЭФФЕКТАМИ У КАЗАХСКОЙ БЕЛОГОЛОВЫЙ И АУЛИЕКОЛЬСКОЙ ПОРОД	92
О. А. Беляк ДНК-ИДЕНТИФИКАЦИЯ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНА β -КАЗЕИНА (β -CSN2) КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА	93
А. Е. Гребенчук, А. С. Парфенова, Т. В. Забавская, И. С. Цыбовский ПАНЕЛЬ ИЗ 14 STR ЛОКУСОВ ДЛЯ ЭКСПЕРТНОЙ ДНК-ИДЕНТИФИКАЦИИ ВОЛКА ОБЫКНОВЕННОГО (<i>CANIS LUPUS LUPUS</i>) И СОБАКИ ДОМАШНЕЙ (<i>CANIS LUPUS FAMILIARIS</i>)	94
И. Е. Грекова МЯСНАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ ОВЕЦ ЗАРУБЕЖНЫХ ПОРОД БЕЛОРУССКОЙ СЕЛЕКЦИИ	95
Е. В. Гузенко УСТАНОВЛЕНИЕ ТАКСОНОМИЧЕСКОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ И ЧИСТОПОРОДНОСТИ ПЧЕЛ <i>APIS MELLIFERA</i> L., РАЗВОДИМЫХ НА ПАСЕКАХ БЕЛАРУСИ, С ПОМОЩЬЮ МОЛЕКУЛЯРНО- ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ	96
Т. В. Долматович, Н. С. Сазанович, Е. Н. Макеева, Н. Н. Чакова, М. Е. Михайлова, Р. И. Шейко ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ЛОШАДЕЙ БЕЛОРУССКОЙ УПРЯЖНОЙ ПОРОДЫ НА ОСНОВЕ ПОЛИМОРФИЗМА МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК	97
С. Е. Дромашко, А. В. Коршук ВЕБ-ПРИЛОЖЕНИЕ ДЛЯ ХРАНЕНИЯ И РЕДАКТИРОВАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ДАННЫХ О ГЕНЕТИЧЕСКИХ, БИОХИМИЧЕСКИХ, МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ, ПОЛОВЫХ ПОКАЗАТЕЛЯХ РЫБ СЕМЕЙСТВА КАРПОВЫХ	98
А. И. Киреева, Е. Л. Романишко МЕТОД МУЛЬТИПЛЕКСНОЙ ПЦР ДЛЯ ГЕНОДИАГНОСТИКИ БРАХИСПИНАЛЬНОГО СИНДРОМА (BY) И ДЕФИЦИТА ФАКТОРА XI СВЕРТЫВАЕМОСТИ КРОВИ (FXID) У КРС	99

М. В. Корнелаева

ВЗАИМОСВЯЗЬ ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНЫХ СПОСОБНОСТЕЙ С РАЗНЫМ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИМ СТАТУСОМ КОРОВ 100

Е. Я. Лебедько

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РОСТОВОЙ МОДЕЛИ В ОТБОРЕ И ОЦЕНКЕ ПЛЕМЕННЫХ КОРОВ ИДЕАЛЬНОГО ТИПА 101

Е. Я. Лебедько

ПРИМЕНЕНИЕ СОВРЕМЕННЫХ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ В СЕЛЕКЦИИ И ТЕХНОЛОГИИ МЯСНОГО СКОТОВОДСТВА 102

С. И. Леонович, А. В. Сидоренко

РАЗРАБОТКА ПРАЙМЕРОВ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ БАКТЕРИЙ *AEROMONAS VERONII* — ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БОЛЕЗНЕЙ РЫБ, МЕТОДОМ ПЦР 103

М. Е. Михайлова, Р. И. Шейко, А. А. Сермягин, Н. А. Зиновьева

АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ПОРОДНОЙ ГРУППЫ БЕЛОРУССКОГО КРАСНОГО СКОТА 104

Е. К. Монтвила, О. С. Митяшова, О. В. Алейникова, И. Ю. Лебедева

ВЛИЯНИЕ ТРИЙОДИТРОНИНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ КЛЕТОК ЖЕЛТОГО ТЕЛА КОРОВ В КУЛЬТУРЕ 105

Ю. И. Охременко, Е. С. Гайдученко

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ СОМИКА АМЕРИКАНСКОГО *AMEIURUS NEBULOSUS* (LESUEUR, 1819) ПО ФРАГМЕНТУ ГЕНА *COI* В БЕЛАРУСИ 106

А. В. Рекубрятский, К. В. Ковалев, Д. А. Балашов

ИЗУЧЕНИЕ ГЕНОТОКСИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА КРИОКОНСЕРВАЦИИ СПЕРМИЕВ КАРПА С ПОМОЩЬЮ ГАПЛОИДНОГО АНДРОГЕНЕЗА 107

Е. Л. Романишко, А. И. Киреева

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ДЕФЕКТ АЛЬФА-МАННОЗИДОЗ В БЕЛОРУССКОЙ ПОПУЛЯЦИИ АБЕРДИН-АНГУССКОГО КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА 108

А. М. Слуквин, Я. И. Шейко, Я. П. Кулешевич

НЕОБХОДИМОСТЬ ПРОВЕДЕНИЯ РЕВИЗИИ МАТОЧНЫХ СТАД КАРПА ПО МАРКЕРАМ ГЕНОВ ХОЗЯЙСТВЕННО-ПОЛЕЗНЫХ ПРИЗНАКОВ 109

Е. В. Снытков, В. Н. Кипень, М. Е. Михайлова, Р. И. Шейко

ОДНОНУКЛЕОТИДНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ С ВЫСОКИМ ДИФФЕРЕНЦИРУЮЩИМ ПОТЕНЦИАЛОМ ДЛЯ СВИНЕЙ ПОРОДЫ ДЮРОК 110

Н. И. Тиханович, Н. А. Камыш

ХАРАКТЕРИСТИКА БЕЛОРУССКОГО ПОГОЛОВЬЯ КРС ГОЛШТИНСКОЙ ПОРОДЫ ПО ПОЛИМОРФИЗМУ STR-ЛОКУСОВ 111

А. И. Царь, О. И. Добыш, В. Ю. Агеец, Т. А. Сергеева

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ЮГОСЛАВСКОЙ И НЕМЕЦКОЙ ПОРОД КАРПА (*CYPRINUS CARPIO CARPIO*), АДАПТИРОВАННЫХ К УСЛОВИЯМ БЕЛАРУСИ 112

А. И. Царь, М. С. Парфенчик, В. Ю. Агеец, Т. А. Сергеева

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ПОПУЛЯЦИИ АМУРСКОГО САЗАНА (*CYPRINUS CARPIO HAEMATOPTERUS*), ВЫРАЩИВАЕМОГО В АКВАКУЛЬТУРЕ В БЕЛАРУСИ 113

В. И. Чинаров СОСТОЯНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ МОЛОЧНОГО СКОТОВОДСТВА РОССИИ	114
В. С. Шевцова, Л. В. Гетманцева, А. В. Усатов ДНК-ПОЛИМОРФИЗМЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ПЛОДОВИТОСТЬЮ ОВЕЦ ВОЛГОГРАДСКОЙ ПОРОДЫ	115
Я. И. Шейко, А. М. Слуквин ИЗУЧЕНИЕ СЕРЕБРЯНОГО (<i>CARASSIUS GIBELIO</i> (BLOCH, 1782) И ЗОЛОТОГО (<i>CARASSIUS CARASSIUS</i> (LINNAEUS, 1758) КАРАСЕЙ ПО МОРФО-БИОЛОГИЧЕСКИМ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИМ КРИТЕРИЯМ	116
Генетика человека, медицинская и спортивная генетика	117
Р. М. Али LNCRNA <i>PVT1</i> ПРИ СИНДРОМЕ ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ	118
Р. М. Али, С. В. Ломтева, Т. П. Шкурат АССОЦИАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ (<i>GPX1</i> , <i>CAT</i>) С СИНДРОМОМ ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ	119
Алсет Дема, Е. В. Бутенко, И. О. Покудина, Т. П. Шкурат, Н. Б. Кузнецова АНАЛИЗ АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ФОЛАТНОГО ЦИКЛА И АНГИОГЕНЕЗА МАТЕРИ С ЗАДЕРЖКОЙ РАЗВИТИЯ ПЛОДА	120
М. Д. Амелянович, Д. А. Кучерявая, М. Л. Лущик, Л. И. Данилова АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА <i>FTO</i> С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ОЖИРЕНИЯ	121
М. Н. Аммар АНТИСМЫСЛОВАЯ НЕКОДИРУЮЩАЯ РНК В ЛОКУСЕ <i>INK4</i> (<i>ANRIL</i>) И РОЛЬ ЕЕ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ В МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЧЕЛОВЕКА	122
М. Н. Аммар, М. А. Шкурат, Л. В. Гутникову, Т. П. Шкурат АССОЦИАЦИЯ ОДНОНУКЛЕОТИДНОГО ПОЛИМОРФИЗМА RS689 ГЕНА ИНСУЛИНА (<i>INS</i>) С РАЗВИТИЕМ ОЖИРЕНИЯ У ДЕТЕЙ ИЗ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ	123
И. Ю. Бакутенко, И. Д. Кужель, Н. В. Никитченко, Е. В. Сечко, И. А. Козыро, А. М. Чичко, Г. М. Батян, А. В. Сукало, Н. И. Рябоконь ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОГО РИСКА ВОЗНИКНОВЕНИЯ ЮВЕНИЛЬНЫХ АУТОИММУННЫХ РЕВМАТИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ	124
К. Г. Бобровская, Е. В. Белая, М. О. Шерстень ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ РЕЦЕПТОРА ВИТАМИНА D (<i>VDR</i>) И КОЛЛАГЕНА (<i>COL1A1</i>) НА РАЗВИТИЕ СКОЛИОЗА У ДЕТЕЙ И ШКОЛЬНИКОВ ПРИ СОЗДАНИИ ЗДОРОВЬЕСБЕРЕГАЮЩЕЙ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ	125
Д. В. Большакова, М. П. Смаль, А. И. Мурадханов, Ю. А. Поддубный, А. И. Ролевич, С. А. Красный, Р. И. Гончарова ГЕРМИНАЛЬНЫЕ МУТАЦИИ ГЕНОВ РЕПАРАЦИИ <i>BRCA2</i> , <i>BRCA1</i> И <i>ATM</i> У ПАЦИЕНТОВ С ПЕРВИЧНЫМ МЕТАСТАТИЧЕСКИМ РАКОМ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	126
И. Г. Буланов ОРГАНИЗАЦИЯ БЕЛОК-КОДИРУЮЩИХ И БЕЛОК-НЕКОДИРУЮЩИХ ГЕНОВ, ЛОКАЛИЗОВАННЫХ НА Y ХРОМОСОМЕ ЧЕЛОВЕКА: ПОИСК АССОЦИАЦИЙ С ГЕНАМИ ФАКТОРА АЗОСПЕРМИИ И ЭКСПРЕССИЕЙ В ТКАНЯХ	127

А. А. Буракова, О. И. Добыш МЕТИЛИРОВАНИЕ CpG-САЙТОВ, ДОСТОВЕРНО АССОЦИИРОВАННЫХ С ВОЗРАСТОМ ЧЕЛОВЕКА, В ДНК СПЕРМЫ	128
В. М. Веремейчик ВНЕЛЭДДЕРНЫЕ ВАРИАНТЫ АЛЛЕЛЕЙ АУТОСОМНЫХ STR-ЛОКУСОВ У НАСЕЛЕНИЯ БЕЛАРУСИ	129
И. М. Голоенко, В. Г. Объедков, Т. С. Голубева, Т. В. Докукина, А. В. Ходжаев ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ В АНТИПСИХОТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ. ФАРМАКОГЕН CYP2D6	130
А. А. Гусина, Н. Б. Гусина, С. Н. Пашук, А. В. Зиновик, Н. В. Румянцева, Е. А. Калинина, И. Н. Мотюк, А. С. Бойша, С. О. Мясников, М. И. Колыбенко, А. И. Кульпанович РЕДКИЕ ФЕНОТИПЫ: НАСЛЕДСТВЕННЫЕ НАРУШЕНИЯ ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЯ	131
М. Ид, Н. П. Милютина, Т. П. Шкурят АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА <i>OXTR</i> С ДЕПРЕССИЕЙ: МЕТААНАЛИЗ	132
Е. М. Квиткова, Х. З. Турсунов, Р. С. Мухамедов МОЛЕКУЛЯРНЫЕ, МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ ИНИЦИАЦИИ И ПРОГРЕССИРОВАНИЯ КОЛОРЕКТАЛЬНЫХ ПОЛИПОВ	133
Е. В. Кобец, Е. П. Янчук, О. В. Шибeko, П. М. Морозик, Э. В. Руденко, Е. В. Руденко, О. Ю. Самоховец ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ, СВЯЗАННЫЕ СО СНИЖЕННОЙ МИНЕРАЛЬНОЙ ПЛОТНОСТЬЮ КОСТНОЙ ТКАНИ И РЕВМАТОИДНЫМИ ПРОЯВЛЕНИЯМИ	134
И. Д. Кужель, О. В. Прибушения, И. В. Наумчик, И. В. Курлович, Н. И. Рябоконь ОЦЕНКА ДВУНИТЕВЫХ РАЗРЫВОВ ДНК В СПЕРМИЯХ ПРИ ПОНИЖЕННОЙ МУЖСКОЙ ФЕРТИЛЬНОСТИ	135
О. В. Лянгасова АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА <i>LHCGR</i> С ЭФФЕКТИВНОСТЬЮ ПРОГРАММ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ	136
О. Ч. Мазур, С. В. Байко, Е. П. Михалеко, И. Н. Андреева, А. В. Кильчевский РЕДКАЯ МУТАЦИЯ ГЕНА <i>EYA1</i> У ПАЦИЕНТА С БРАНХИО-ОТО-РЕНАЛЬНЫМ СИНДРОМОМ	137
О. М. Малышева, Е. П. Михаленко, О. Ч. Мазур, М. В. Артюшевская, А. В. Кильчевский АНАЛИЗ ГЕНОВ-КАНДИДАТОВ РАЗВИТИЯ РЕТИНОПАТИИ НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПОЛНОЭКЗОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ	138
В. В. Маринич, Н. В. Шепелевич ПСИХОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НЕЙРОТИЗМА У СПОРТСМЕНОВ-ЮНИОРОВ В ПРЕДСОРЕВНОВАТЕЛЬНЫЙ ПЕРИОД ПОДГОТОВКИ	139
А. Ф. Мацукидис, О. Н. Антосюк ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРНЫХ УСЛОВИЙ ОНТОГЕНЕЗА <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> НА ИЗМЕНЕНИЕ ГЕНОТОКСИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ	140
Ю. А. Могулевцева, А. В. Мезенцев, С. А. Брускин ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА РНК-ИНТЕРФЕРЕНЦИИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ РОЛИ ММП9 В ПАТОГЕНЕЗЕ ПСОРИАЗА	141

Н. В. Никитченко, А. А. Яцкив, Е. С. Синявская, А. Г. Белькевич, И. А. Козыро, Н. Ю. Достанко, В. Е. Ягур, Р. И. Гончарова ПОЛИМОРФНЫЕ ЛОКУСЫ ГЕНОВ <i>STAT4</i> , <i>PTPN2</i> , <i>PTPN22</i> КАК МАРКЕРЫ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКЕ И ЛЮПУС НЕФРИТУ	142
Н. Г. Седляр, И. Б. Моссэ, Е. П. Янчук, Т. В. Докукина РОЛЬ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ СЕРОТОНИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В ФОРМИРОВАНИИ ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТАТУСА ЧЕЛОВЕКА	143
Е. С. Синявская, А. А. Яцкив, Д. В. Большакова, Н. Ю. Достанко, В. Е. Ягур, Р. И. Гончарова МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К РЕВМАТОИДНОМУ АРТРИТУ У НАСЕЛЕНИЯ БЕЛАРУСИ	144
С. С. Слюсарев СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ИНТРОН-ЭКЗОННОЙ СТРУКТУРЫ НЕКОТОРЫХ ГЕНОВ ЧЕЛОВЕКА	145
А. С. Сталыбко, А. А. Гусина, С. Н. Пашук, Т. О. Кочеткова, И. О. Саделов, Е. С. Шубина, Д. Ю. Трофимов МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ С ВРОЖДЕННЫМ СМЕЩЕНИЕМ ХРУСТАЛИКА В БЕЛАРУСИ	146
С. А. Тихомиров, Г. Кокаева, О. И. Рудько, Е. А. Катунина, Н. Н. Шипилова, Н. В. Титова РОЛЬ КЛЮЧЕВЫХ ГЕНОВ МЕТАБОЛИЗМА ДОФАМИНА В ВОЗНИКНОВЕНИИ ИМПУЛЬСИВНО-КОМПУЛЬСИВНЫХ РАССТРОЙСТВ НА ФОНЕ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА	147
С. Тоннанг Момо, Е. В. Машкина ИССЛЕДОВАНИЕ АССОЦИИ ПОЛИМОРФИЗМА rs2302382 ГЕНА <i>GIPR</i> С ОЖИРЕНИЕМ У ДЕТЕЙ ИЗ РОСТОВА-НА-ДОНУ	148
М. М. Церахава, Я. Магіера, Дж. Ціў, Ж.-П. Мажараль, І. Вацулікава, М. Брышэўска, Д. Г. Шчарбін ПЕРСПЕКТЫЎНАСЦЬ ВЫКАРЫСТАННЯ АМФІФІЛЬНЫХ ФОСФАРЗМЯШЧАЛЬНЫХ ДЭНДРОНАЎ У ГЕНЕТЫЧНАЙ ТЭРАПІІ ЛЕЙКОЗНЫХ ЗАХВОРВАННЯЎ	149
Е. П. Цыганкова, Е. С. Иванова, А. А. Александрова ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ У БОЛЬНЫХ COVID-19	150
Н. Н. Чакова, Т. В. Долматович, С. М. Комиссарова, А. А. Гусина, В. Ч. Барсукевич, С. С. Ниязова МУТАЦИИ В ГЕНЕ <i>RYR2</i> У ПАЦИЕНТОВ С ЖЕЛУДОЧКОВЫМИ ТАХИАРИТМИЯМИ И ТРАНЗИТОРНЫМ УДЛИНЕНИЕМ ИНТЕРВАЛА QT	151
Е. К. Шематорова, Д. Г. Шпаковский, Г. В. Шпаковский ЧЕЛОВЕКСПЕЦИФИЧНЫЕ ПРОДУКТЫ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ <i>POLR2J2-POLR2J4</i> И <i>PCID1</i> <i>НОМО SAPIENS</i> КАК НОВЫЕ БИОМАРКЕРЫ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ	152
М. Н. Шепетько, Е. П. Михаленко, А. Н. Щаюк, Ю. В. Полюхович, Ю. С. Станкевич, А. В. Кильчевский ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ VEGF И ОЦЕНКА ВЫЖИВАЕМОСТИ У ПАЦИЕНТОВ С НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО	153

С. С. Шепталиня, З. Г. Кокаева, О. И. Рудько, Е. А. Наумова, И. О. Остроухов РОЛЬ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ БЕЛКИ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКОЙ И ХОЛЕЦИСТОКИНИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМ В ПАТОГЕНЕЗЕ ПАНИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВ ЧЕЛОВЕКА	154
Т. А. Шерчкова ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНА <i>XRCC1</i> И МУЖСКОЕ БЕСПЛОДИЕ: МЕТААНАЛИЗ	155
Е. А. Шило, Т. Н. Дубинич-Федорова, О. И. Плотницкая ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЛОКУСЕ ГЕНА АМЕЛОГЕНИНА В АСПЕКТЕ СУДЕБНО- ГЕНЕТИЧЕСКОГО ТИПИРОВАНИЯ ДНК	156
N. I. Alayasa Nadeim, E. G. Derevyanchuk, O. Yu. Bordaeva EXPRESSION OF CIRCULATING MICRORNAS AS DIAGNOSTIC MARKERS OF PREECLAMPSIA	157
S. Timofeeva, T. Sherchkova LONG CODING RNA INTERACTION WITH GENE <i>LDLR</i> ASSOCIATED WITH ATHEROSCLEROSIS	158
Dai Xiaoxuan, V. V. Grinev PIPELINE FOR IDENTIFICATION, QUANTIFICATION AND ANNOTATION OF BACK-SPLICE JUNCTIONS IN THE TRANSCRIPTOME OF HUMAN CELLS	159
Секция 5. Биоинформатика. Метагеномика	160
Ш. А. Бегматов, В. В. Кадников, А. В. Марданов, А. В. Белецкий, А. П. Лукина, Л. Б. Глухова, О. В. Карначук, Н. В. Равин ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ БИОРАЗНООБРАЗИЕ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ В ГОРНОМ АЛТАЕ	161
П. В. Вычик, А. В. Дигрис, Е. И. Дувалов, В. В. Скакун, Е. А. Николайчик РАЗРАБОТКА WEB-ИНСТРУМЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА БАКТЕРИАЛЬНЫХ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ	162
А. Д. Герасимович, А. Э. Охремчук, Л. Н. Валентович, А. В. Сидоренко АНАЛИЗ ГЕНОМА БАКТЕРИОФАГА <i>LACTOCOCCUS VIRUS</i> БИМ BV-114	163
С. Е. Дромашко, О. Д. Левданский, Ф. Л. Лобков НОВЫЙ ПАЙПЛАЙН ДЛЯ ОБРАБОТКИ ДАННЫХ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИХ ГЕНОМОВ РАСТЕНИЙ.....	164
О. В. Евдокимова, Е. А. Семенчукова, М. А. Сиколенко СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНОМОВ БАКТЕРИЙ <i>BACILLUS SAFENSIS</i>	165
Я. П. Кононович, В. Р. Вертелко, Ю. В. Бондаренко, Н. В. Воронова ГЕНОМ <i>BUCHNERA APHIDICOLA</i> MUNSON ET AL., 1991 — ОБЛИГАТНОГО СИМБИОНТА ТЛЕЙ, И ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В ФИЛОГЕНИИ.....	166
О. Д. Левданский, Е. А. Мишук, П. В. Пашкевич SNV АНАЛИЗ ДАННЫХ ПАЦИЕНТОВ С РАЗЛИЧНЫМИ ТИПАМИ ПАТОЛОГИИ	167
С. С. Левыкина, П. Е. Александрович, Н. В. Воронова НЕКОДИРУЮЩИЕ ОБЛАСТИ В МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ГЕНОМАХ НАСТОЯЩИХ ТЛЕЙ (ЛАТ. APHIDIDAE).....	168

Е. Н. Макеева, А. Н. Кузьмич РАЗВИТИЕ ПРАВОВОГО РЕГУЛИРОВАНИЯ ДОСТУПА К ГЕНЕТИЧЕСКИМ РЕСУРСАМ НА НАЦИОНАЛЬНОМ УРОВНЕ.....	169
А. А. Муратова, Е. В. Охремчук АНАЛИЗ ГЕНОМА ТЕРМОФИЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ <i>SUTCLIFFIELLA HORIKOSHII</i> BAT	170
А. Э. Охремчук, Л. Н. Валентович СЕКВЕНИРОВАНИЕ И ПЕРВИЧНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНОМА <i>DIETZIA KUNJAMENSIS</i> 313.....	171
С. А. Петров, А. М. Субботин, М. В. Нарушко, А. А. Кастионов, В. А. Мальчевский К ВОПРОСУ О ЗАВИСИМОСТЯХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ МИКРООРГАНИЗМОВ ОТ МЕСТА ИХ ОБИТАНИЯ В ДИСПЕРСНЫХ ОБВОДНЕННЫХ ПОРОДАХ, ПЕРЕШЕДШИХ В МЕРЗЛОЕ СОСТОЯНИЕ	172
Л. И. Сапунова, И. О. Тамкович, Л. В. Ерхова, Д. Г. Бамбиза, И. М. Лойко, Н. В. Халько ПОЛУЧЕНИЕ И СВОЙСТВА β -ФРУКТОФУРАНОЗИДАЗЫ <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> , ВОСТРЕБОВАННОЙ ДЛЯ ИНВЕРСИИ САХАРОЗЫ	173
М. А. Сиколенко, Л. Н. Валентович ПРОБЛЕМА НОРМАЛИЗАЦИИ ОТНОСИТЕЛЬНОЙ ПРЕДСТАВЛЕННОСТИ ТАКСОНОВ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРИ АНАЛИЗЕ 16S МЕТАГЕНОМНЫХ ОБРАЗЦОВ	174
В. В. Скакун, Ю. А. Коберник-Березовский, Н. Н. Яцков, В. В. Гринев БАЗА ДАННЫХ ГЕНОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ САЙТОВ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА.....	175
А. А. Шевцова, В. А. Большаков, А. Ю. Берёзов, А. В. Королев РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ И ПОЛИМОРФИЗМ ПАТОГЕННЫХ ВИРУСОВ ПЧЕЛ В РАЗЛИЧНЫХ РЕГИОНАХ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ	176
Я. В. Шинкевич, В. В. Гринев ОБНАРУЖЕНИЕ САЙТОВ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ВАРИАЦИЙ С ПОМОЩЬЮ НЕЙРОННЫХ СЕТЕЙ	177
Р. С. Шулинский, В. И. Чесалин, В. Л. Крук, А. В. Барышева, Ю. В. Бондаренко СПОСОБ ИЗМЕРЕНИЯ НЕЕВКЛИДОВЫХ ДЛИН ФРАГМЕНТОВ ГЕНОМНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ	178

ГЕНЕТИКА, БИОТЕХНОЛОГИЯ И СЕЛЕКЦИЯ РАСТЕНИЙ

С. Ш. Абдирахимова, С. Г. Шеримбетов, Р. С. Мухамедов

ВАЖНЫЕ ВОПРОСЫ РАЗМНОЖЕНИЯ НОВЫХ ФОРМ *LYCIUM RUTHENICUM* MURR. В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*, ПРИСПОСОБЛЕННЫХ РАСТИ В РАЗЛИЧНЫХ СТРЕССОВЫХ УСЛОВИЯХ АРАЛКУМА

Институт биоорганической химии имени академика А.С.Садыкова Академии Наук Республики
Узбекистан, 100125, г. Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 83
e-mail: sayoraabdirahimova@gmail.com

В настоящее время во многих регионах мира существуют проблемы опустынивания, засухи и увеличения степени минерализации почв. В результате интенсивного влияния этих негативных экологических процессов на территории, используемые для сельскохозяйственных целей, снижается урожайность многих сельскохозяйственных культур.

Для повышения устойчивости растений к засухе важно возделывание растений с использованием современных биотехнологических и классических селекционных методов, а также использования экзогенных регуляторов роста, которые обеспечивают устойчивость растений к засухе.

Исходя из вышеуказанных задач, молекулярно-генетическая характеристика генов галофитных растений, отвечающих за солеустойчивость и распространенных на высохшем дне Аральского моря, создание их генбанка, а также изучение растений на основе различных подходов клеточной технологии, является одним из приоритетных научно-исследовательских работ.

На сегодняшний день учеными различных стран достигнуты весомые научные результаты по определению с помощью специфических праймеров экспрессии некоторых «кандидат генов» солеустойчивости из генома растений из различных систематических единиц, в гены DREB, NAC, WRKY, Na⁺/H⁺ антипортер, BADH и другие гены, а также получению, отбору и размножению новых форм растений из устойчивых клеток и тканей.

Во время исследований на территории Южного Арала и Приаралья в течение 2017–2022 годов были изучены биоэкологические особенности популяций растения *Lycium ruthenicum* Murr., произрастающих в различных экологических условиях. Род *Lycium* относится к семейству *Solanaceae*, которое включает в себя более 80 видов по всему миру. Некоторые их виды широко распространены на пустынных территориях нашей республики. В биоразнообразие южной части высохшего дна Аральского моря из вышеуказанного семейства внесен вид *L. ruthenicum*. Вид *L. ruthenicum* является галофитным растением, адаптированным к засоленной и засушливой среде, устойчивым к сильным ветрам, морозам и жаре. А также может произрастать на сильно засоленных почвах и устойчив к засоленным грунтовым водам. Зафиксировано, что *Lycium ruthenicum* устойчив к засоленным почвам и грунтовым водам, и снижает передвижение солончаков.

В настоящее время ведутся работы по выращиванию клеток и тканей растения *L. ruthenicum*, отобранных из различных засоленных почв Южного Аралкума, в условиях *in vitro* посредством добавления в питательную среду различных солей, получению и размножению новых адаптированных форм растения, а также оптимизации методов размножения *L. ruthenicum* в условиях *in vitro* на основе биохимических и экологически-адаптационных молекулярно-генетических особенностей данного вида растения.

Е. Л. Андроник, Е. В. Иванова

ИЗУЧЕНИЕ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ОБРАЗЦОВ ЛЬНА МАСЛИЧНОГО ПО ОСНОВНЫМ ХОЗЯЙСТВЕННО ЦЕННЫМ ПРИЗНАКАМ

РУП «Институт льна»

Республика Беларусь, 211003, аг. Устье, ул. Центральная, 27,

Оршанский район, Витебская область

e-mail: andronik11@rambler.ru

Селекционная работа со льном масличным в РУП «Институт льна» направлена на создание высокоурожайных, высокомасличных, дружно созревающих, устойчивых к биотическим и абиотическим факторам среды сортов. Первым и очень важным звеном в процессе создания новых сортов льна масличного является исходный материал, к которому относят коллекцию образцов, сортов, разновидностей культурных и диких видов, а также гибриды и мутанты первого и второго поколений, созданные непосредственно селекционерами института. Рабочая коллекция льна масличного в настоящее время насчитывает свыше 300 образцов из 35 стран мира. Основная часть коллекционных образцов интродуцирована из мировой коллекции ВИРа и ВНИИЛа, другие — из стран ближнего и дальнего зарубежья в результате взаимовыгодного обмена.

Накопленный материал генетических ресурсов льна растет ежегодно, и работа с ним имеет свои особенности. Изучение поступившего коллекционного материала по основным хозяйственно-ценным признакам проводят в течение 3-х и более лет, в результате чего происходит идентификация, описание по фенотипу, сопровождение необходимой документацией и передача в Национальный банк генетических ресурсов Беларуси. Все образцы, изученные по итогам реализации в 2007–2021 гг. ГП «Генофонд», заложены на среднесрочное хранение.

Изучение коллекционного фонда за эти годы позволило провести инвентаризацию активной рабочей коллекции льна масличного, сформировать и описать по фенотипическим и хозяйственно-ценным признакам коллекцию эталонных образцов, опубликовать методические указания по изучению коллекции льна и классификатор льна, создать национальный каталог генетических ресурсов льна масличного с описанием ценных, уникальных образцов отечественной и зарубежной селекции.

Одним из основных результатов исследований по изучению генетического фонда льна масличного стало формирование признаковых коллекций, в которые вошли генотипы с высокой урожайностью (namelles № 221, Minn 187sel., Jupiter, Ligezhning, B-206, Салют, Визирь, Фокус, Опус, Илим, Альянс, Бонус, Славянин) и массой 1 000 семян (Северный, Август, LONGYA-8, KE-420, LONGYA-10, Duches, YF-18, YF-04), устойчивостью к полеганию и фузариозному увяданию, высоким содержанием масла в семенах (Салют, Опус, Дар, Фокус, Блакитно-помаранчевый, Оригинал, Август, Ligezhning, Илим, YF-04, ВНИИМК-630, Selectiong, Sumpersky), содержанием полиненасыщенной жирной кислоты omega-3 более 50% (Салют, Брестский, Визирь, Фокус, Mickael, Циан), низкорослые (Блакитно-помаранчевый, Оригинал, Benvanuta Real, Entre-Rios, Princess, Imperial P7699, Baikal, Duchess, Кивика, Эврика, Altess, Comtess), раннеспелые (Фокус, Кивика, CI-1247, Minn 187sel., Бахмальский 1056, namelles (kf-503); Imperial P7699, W5 61/8 Ro-92, Янтарь, Istru, CBC Bethune, LAN2606, KE-420), с низкой и средней вариацией вышеперечисленных признаков для целей практической селекции.

За 14 лет напряженной селекционной работы (2007–2021 гг.) в Государственный реестр сортов Республики Беларусь были включены 10 сортов льна масличного, созданных селекционерами РУП «Институт льна» с привлечением в качестве исходного материала генетического фонда.

Е. Л. Андроник, Е. В. Иванова, Д. А. Батюков

ДЕЙСТВИЕ N-НИТРОЗОЭТИЛМОЧЕВИНЫ И N-НИТРОЗОМЕТИЛМОЧЕВИНЫ НА ВСХОЖЕСТЬ И ВЫЖИВАЕМОСТЬ РАСТЕНИЙ ЛЬНА МАСЛИЧНОГО В М₁

РУП «Институт льна»

Республика Беларусь, 211003, аг. Устье, ул. Центральная, 27,

Оришанский район, Витебская область

e-mail: andronik11@rambler.ru

Ряд исследователей (Н. Н. Зоз, И. А. Рапопорт, И. Я. Шаров, В. А. Лях и др.) сообщают, что последствие обработки семян мутагенами проявляется в первую очередь на показателях полевой всхожести, выживаемости растений М₁. В зависимости от дозы и концентрации мутагены могут проявлять депрессивное или стимулирующее действие на процессы роста и развития растений. Следовательно, в селекционной работе использование высоких концентраций мутагенов нецелесообразно, однако концентрации мутагенов не должны быть и слишком низкими, иначе воздействие мутагена будет малоэффективным.

В условиях Беларуси исследований по использованию индуцированного химического мутагенеза в селекции льна масличного не проводилось. В этой связи целью исследований являлось установление эффекта действия химических мутагенов на полевую всхожесть семян и выживаемость растений льна масличного в популяции М₁.

Объектом исследований служили сорта льна масличного из генетической коллекции Института льна, которые представляют селекционную ценность и отличаются рядом морфологических признаков и биохимических показателей: Илим, Визирь, Бонус, Фокус, Дар, Altess. Концентрации рабочего раствора мутагенов — 0,006%; 0,12%; 0,25%; экспозиции — 6, 12, 18 часов. Для проведения исследований использована методика Н. Н. Зоз (1968).

Тестом чувствительности растений к действию мутагенов по результатам исследований В. В. Хвостовой, С. А. Валеовой, Ф. Жогина, В. В. Моргуна, В. П. Оксьом может служить полевая всхожесть растений М₁, которую в исследованиях определяли путем подсчета количества растений на делянке в фазе полных всходов. Семена, обработанные сравнительно низкими концентрациями (НММ — 0,006%, НЭМ 0,006%) взошли на 7–8 день, а при высоких концентрациях (НММ — 0,12–0,25%, НЭМ — 0,12–0,25%) на 8–12 день после посева.

В первом поколении наблюдали угнетающее действие мутагенов на полевую всхожесть растений в зависимости от вида мутагена и его концентрации. Установлено, что вариант НЭМ в концентрации 0,25% при 12 и 18 часовой экспозиции вызывал полную гибель всходов у всех изучаемых сортов. Отмечалось резкое снижение всхожести или полная гибель всходов при обработке семян мутагеном НЭМ в концентрации 0,12% при 12 часовой и 18 часовой экспозиции. НЭМ оказывал более угнетающее влияние на всхожесть по сравнению с НММ в концентрациях 0,12–0,25%.

У большинства сортов всхожесть семян, обработанных НЭМ 0,006%, была на уровне 45,0–81,0%, что является вполне приемлемым показателем для всхожести М₁ семян льна масличного, в то время как всхожесть семян, обработанных НММ 0,006%, была на уровне 68,25–85,0% при 75,5–78,5% в контроле. Только у сорта Бонус обработка НММ в экспозиции 0,006% оказала стимулирующее действие на всхожесть (85%). Выживаемость растений льна масличного после обработки семян мутагенами зависела от сорта. Так, у сорта Altess выживаемость растений в среднем составила 52,7%, в то время как у сорта Илим выживаемость растений была в среднем 64,9%.

Н. В. Анисимова, О. Г. Бабак, Е. В. Дрозд, Н. А. Некрашевич, К. К. Яцевич, А. В. Кильчевский

СОЗДАНИЕ НОВЫХ ФОРМ ПЕРЦА *CAPSIDUM ANNUUM* С КОМПЛЕКСОМ ГЕНОВ КАЧЕСТВА И УСТОЙЧИВОСТИ К БОЛЕЗНЯМ

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: N.Anisimova@igc.by

C. annuum широко культивируют в мире как ценное пищевое и лекарственное растение, его плоды высоко ценятся за вкусовые качества и богатый биохимический состав, включающий полезные для человека компоненты. Приоритетными направлениями современной селекции перца сладкого является создание форм с улучшенным качеством продукции, устойчивых к болезням и вредителям. Успешное решение этой задачи возможно с привлечением методов маркер-ассоциированной селекции, позволяющих эффективно подбирать источники целевых генов для гибридизации и отбирать генотипы с заданными комбинациями аллелей в ходе селекционного процесса.

Образцы перца демонстрируют широкое разнообразие окраски плода и ее интенсивности на разных стадиях развития, что определяется особенностями пигментного состава и, главным образом, соотношением между каротиноидными и антоциановыми пигментами. Одним из структурных генов биосинтеза каротиноидов в плодах перца, полиморфизм которого определяет проявление красной / желто-оранжевой окраски плодов, является ген капсантина/капсорубинсинтазы (*Ccs*). Красная окраска плодов обеспечивается экспрессией нормального аллеля *Ccs*, контролирующего превращение антераксантина в капсантин и капсорубин (Thorup et al., 2000). В регуляции накопления пигментов флавоноидной природы – антоцианов участвуют гены *R2R3Myb*-транскрипционных факторов *Myb 113-like1* и *Myb 113-like2* (*Myb113-like1-promIns148*, *Myb113-like1-delT*, *Myb113-like2-SNP C/A*), мутации в которых нарушают их биосинтез (Babak et al., 2000). Кроме того, на окраску плодов перца влияют мутации регуляторных генов *APRR2-Like* и *Chlorophyll retainer (Cl)*, определяющих общий характер накопления пигментов в плодах. SNP (G – A) у гена *APRR2-Like* приводит к уменьшению накопления пигментов в целом, что на стадии технической спелости проявляется в виде бледно-зеленой окраски плодов (Pan et al., 2013). Мутация *cl* вызывает ингибирование деградации хлорофилла при созревании и определяет коричневую или желто-зеленую окраску спелых плодов в зависимости от сочетания с аллелями гена *Ccs* (Babak et al., 2016).

Помимо аллелей, влияющих на пигментный состав плодов и определяющих их окраску, вкусовые и лечебно-профилактические качества, конкурентоспособные формы перца должны иметь генетические детерминанты устойчивости к заболеваниям, которые осложняют возделывание этой культуры.

Для получения новых перспективных форм перца сладкого нами проведены скрещивания образцов, несущих разные сочетания аллелей, контролирующих пигментный состав, с источниками генов устойчивости к болезням и вредителям. Отцовским компонентом скрещивания выбран сорт Zong Kao, несущий аллели устойчивости к вирусным инфекциям — Y вирусу картофеля (*pvr1*), вирусу крапчатости сосудов чили (*Cvr1*). В качестве материнских форм взяты образцы Валенсия, Златозар, Шоколадная красавица и Л160-10, являющиеся источниками различных аллелей качества плодов и аллелей устойчивости к галловой нематоде (*Me1*), фитофторе перца (*Phyto 5.1*).

В результате гибридизации и последующих генетико-селекционных исследований получены формы, несущие аллели пигментного состава в различных комбинациях (*Ccs*+/-, *Cl/cl*, *APRR2-Like*, *Myb113-like1-promIns148*, *Myb113-like1-delT*, *Myb113-like2-SNP C/A*) в сочетании с хозяйственно-ценными генами устойчивости к наиболее вредоносным заболеваниям (*pvr1*, *Cvr1*, *Me1*, *Phyto 5.1*). Данные образцы являются ценным селекционным материалом для создания новых конкурентоспособных сортов перца сладкого с высокими декоративными и вкусовыми характеристиками, востребованным современным потребителем.

Д. Б. Баракаева¹, Н. И. Мукаррамов², С. Ф. Арипова²

ОПРЕДЕЛЕНИЕ В СМОЛЕ *FERULA TADSHIKORUM* МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ ФЕРУЛОВОЙ КИСЛОТЫ

¹Ташкентский аграрный университет

Республика Узбекистан, 100140, г. Ташкент, ул. Университет, д. 2а

e-mail: barakayevadildora70@gmail.com

²Институт химии растительных веществ им. акад. С.Ю. Юнусова АН РУз,

Республика Узбекистан, 100170, г. Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 77

Растения рода Ферула семейства зонтичных (Apiaceae Umbeliferae) широко распространены во флоре стран СНГ, включая Западную Сибирь, Казахстан и Среднюю Азию. Виды рода *Ferula* L., в основном горные растения, встречаются относительно высоко — на высотах от 300 до 3600 м над уровнем моря, как на мелкоземках, пестроцветных толщах, так и на щебнистых склонах, осыпях гор. Из приведенных 37 видов рода 5 являются эндемиками Памиро-Алая. *Ferula tadshikorum* Pimenov — многолетний монокарпический вид, большой жизненный цикл его осуществляется за 23–27 (30) лет. Онтогенез неполный и включает 3 периода (латентный, прегенеративный и генеративный) и 6 возрастных состояний: семена, проростки, ювенильные, имматурные, виргинильные и генеративные особи. Длительный период прегенеративного развития и монокарпический жизненный цикл делают особи *Ferula tadshikorum* особо привлекательными.

В Узбекистане на основе *Ferula tenuisecta* Korovin, *Ferula kuhistanica* Korovin, *Ferula varia* (Schrenk) Trautv. созданы фитоэстрогенные препараты: Тестестрол, Ферулен, Паноферол, Цинарозид и др. для применения в медицине и сельском хозяйстве. Другой вид Ферулы (*Ferula tadshikorum*) исследован в меньшей степени и практического применения пока не получил. С этой целью была изучена камедь-смола *Ferula tadshikorum*. В ходе исследования из смолы получены гексановая и метанольная фракции и проведено сравнительное исследование компонентов фракций.

Для исследования приготовили по 10 мл испытуемого метанольного раствора смолы в концентрации 0,5 мг/мл и стандартной феруловой кислоты 0,2 мг/мл, которые подвергли ВЭЖХ анализу на хроматографе Shimadzu с УФ-детектором при длине волны 320 нм. В качестве неподвижной фазы использовали колонку с силикагелем (5 мкм) связанным с октадецилсилиланом, Supelco C18, 150 × 4,6 мм, 5 мкм. Элюирование осуществляли смесью ацетонитрила : (вода : муравьиная кислота 20 мл/1 000 мл) — 30:70 в изократическом режиме при комнатной температуре со скоростью потока элюэнта 0,5 мл/мин. В результате на хроматограмме фракций была идентифицирована феруловая кислота по времени удержания, которое совпадало с временем удержания стандартного образца феруловой кислоты и составляло 6,5 мин.

Г. К. Батыру, Г. Е. Комарова, А. Н. Адамчук, А. И. Ротарь, С. Н. Боунегру, Е. А. Ротарь

НОВЫЕ ПОДХОДЫ В МОДЕЛИРОВАНИИ ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКИХ ПАСПОРТОВ ГИБРИДОВ КУКУРУЗЫ И ИХ РОДИТЕЛЬСКИХ ЛИНИЙ

*Технический Университет Молдовы, Агрономический факультет
Республика Молдова, MD-2004, г. Кишинев, ул. Штефан чел Маре, 168
e-mail: grigore.batiru@gmail.com*

Проблема сертификации качества гибридных семян кукурузы, предназначенных для экспорта, является одной из приоритетных для молдавского семеноводства. В настоящее время в Республике Молдова разрабатывается Институционный проект, рабочая идея которого состоит в создании каталога электрофоретических (ЭФ) паспортов экспортируемого семеноводческого материала кукурузы для его использования на национальном и международном уровнях. Первый этап работ по созданию этого каталога предусматривает формирование моделей ЭФ паспортов запасных белков родительских линий и получаемых на их основе гибридов. Для разработки моделей ЭФ паспортов использованы родительские линии гибридов кукурузы отечественной селекции четырех типов: простых, простых модифицированных, тройных и двойных межлинейных гибридов от двух ведущих оригинаторов экспортируемых гибридов из Республики Молдова: Институт Растениеводства Порумбень и Компании «MTI Maize Technologies International» SRL. Для получения ЭФ спектров запасного белка семян кукурузы (зеина) использовали метод ЭФ в полиакриламидном геле, в соответствии с национальным стандартом SM-2003. Составление формул анализируемых ЭФ спектров осуществляли на основе новой версии программы «FOREZ-2», которая предусматривает специфику следующего алгоритма: 1) бинаризация интенсивности: полоса есть (1) или полосы нет (0); 2) определение границы полос (пептидных субъединиц): rf_{in} & rf_{fin} ; 3) формирование текстового файла со списком границ ЭФ полос $[rf_{in}-rf_{fin}]$ для каждого анализируемого генотипа. Пошаговое выполнение алгоритма программы «FOREZ-2» создает информационную основу для моделирования ЭФ паспортов гибридов и их родительских линий путем автоматического выявления на полученных компьютерных матрицах: а) количественной специфики полиморфизма зеина для каждого генотипа, проходящего паспортизацию; б) количественной специфики маркирования по бинарной интенсивности молекулярных форм зеина (МФЗ) гибридов кукурузы, сертифицируемых методом электрофореза белков. В каждый паспорт, независимо от типа анализируемого гибрида, запрограммировано включение следующей информации: формула гибрида с указанием названия родительских форм; ЭФ матрицы белковых профилей родительских линий и ЭФ спектр гибрида, автоматически синтезированный по принципу кодоминантности; условные обозначения для белковых маркеров гибридности; автоматически определяемые количественные характеристики МФЗ в ЭФ спектре гибрида, среди которых наиболее важными являются: а) «общая площадь» всей совокупности ЭФ зон, характеризующих моделируемый белковый профиль; б) «площадь» каждой маркерной зоны и их общей совокупности для соответствующего изучаемого ЭФ спектра; в) «процентная доля площади» маркерных МФЗ от общей площади МФЗ ЭФ гибридного белкового профиля, что оптимизирует экспресс-диагностику уровня гибридности партий семян гибридов кукурузы, предназначенных для сертификации. Таким образом, разработанные подходы по обработке ЭФ белковых спектров на основе созданной модифицированной версии программы «FOREZ-2» следует рассматривать как новый экспериментальный инструмент для моделирования ЭФ паспортов запасных белков гибридов кукурузы и их родительских форм.

А. Бекбаева, Е. В. Жолдыбаева, А. Амиргазин, А. Б. Шевцов, Б. Б. Хасенов

ПОЛНЫЙ МИТОХОНДРИАЛЬНЫЙ ГЕНОМ *CAPREOLUS PYGARGUS* — ОХРАНЯЕМОГО И ИСЧЕЗАЮЩЕГО ВИДА В КАЗАХСТАНЕ

ТОО «Национальный центр биотехнологии»

Казахстан, 010000, г. Астана, Кургальжинское шоссе, здание 13/5

e-mail: aika_bekbaeva@mail.ru

В рамках научно-технической программы сохранения и изучения генетических ресурсов биоразнообразия была проведена видовая идентификация редких и исчезающих видов фауны Казахстана, в число которых входит косуля (*Capreolus pygargus*), на основе секвенирования нового поколения. Использование последовательности митохондриальной ДНК в качестве молекулярных маркеров для изучения генетического разнообразия является актуальным методом, так как митохондриальная ДНК, в связи с высокой скоростью мутирования, является хорошим объектом для изучения филогении (эволюционного родства) живых организмов. Казахстан с серьезностью относится к сохранению и устойчивому использованию собственных генетических ресурсов, так как проблема сохранения биологического разнообразия является главным приоритетом Конвенции о биологическом разнообразии.

В качестве объекта исследований была использована ДНК, выделенная из собранных биологических образцов редких и исчезающих видов фауны Казахстана: косуля (*Capreolus pygargus*). Для амплификации и секвенирования всей нуклеотидной последовательности митохондриальной ДНК были подобраны 4 пары перекрывающихся праймеров, покрывающие полный геном митохондриальной ДНК косули (*Capreolus pygargus*). Амплификации длинных ПЦР продуктов проводили, используя комбинацию высокопроцессивной ДНК-полимеразы и *Pfu* ДНК-полимеразы с корректирующей активностью, с последующим ДНК секвенированием наработанных ПЦР-продуктов. Размер ампликонов составлял от 4 800–5 100 пар оснований. В последующем ПЦР-продукты очищали, используя магнитные частицы и в одинаковой концентрации объединяли. Полученный микс использовали для приготовления библиотек с набором Illumina® DNA Prep, (M) Tagmentation. Секвенирование проводили на приборе MiSeq (Illumina) используя набор реагентов MiSeq reagent kit v3. Сборку контигов осуществляли с использованием программного обеспечения SPADES. Размер отсеквенированной последовательности митохондриальной ДНК косули (*Capreolus pygargus*) составил 18 957 пар оснований. Полученная последовательность была загружена в NCBI и был присвоен номер архива чтения последовательности (SRA): SRR21460066. Результаты составленного филогенетического дерева показали, что казахстанская косуля образует один кластер с косулями под регистрационными номерами в Genbank KT964438.1 и JQ979224.1, которые обитают в России. Следующими эволюционно близкими являются косули под регистрационными номерами KJ558333 и JX049559 из Польши и Южной Кореи соответственно.

Новые знания, полученные в ходе выполнения научных исследований, будут использованы при разработке специальных мероприятий по сохранению и воспроизводству редких и находящихся под угрозой исчезновения видов животных на основе использования современных методов биотехнологии.

С. Н. Белов

РАЗРАБОТКА ЭЛЕМЕНТОВ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ УДВОЕННЫХ ГАПЛОИДОВ ОГУРЦА (*CUCUMIS SATIVUS* L.) МЕТОДОМ ГИНОГЕНЕЗА

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Федеральный научный центр овощеводства»
Россия, 143072, Московская область, Одинцовский г.о.,
пос. ВНИИССОК, ул. Селекционная, 14
e-mail: belov@vniissok.ru

Ускорение селекционного процесса огурца возможно за счет внедрения биотехнологических методов, которые позволяют создать гомозиготную линию в течение 1–1,5 лет. Среди используемых гаплоидных технологий, метод гиногенеза является одним из самых перспективных в семействе Cucurbitaceae.

Донорные растения выращивали в условиях кондиционируемой вегетационной камеры при 23 °С и фотопериоде 16 часов день/8 часов ночь, освещенности 9 тыс. люкс. Введение в культуру *in vitro* проводилось согласно разработанной в ФГБНУ ФНЦО методике. Сбор женских бутонов и закладку опытов производили с середины февраля по середину сентября с растений, возраст которых не превышал 10 недель. Пересадка семян на свежую питательную среду производилась 1 раз в неделю. Обработку экспериментальных данных проводили с использованием общепринятых математико-статистических методов с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel 2016 для Windows 10.

Индукция гиногенного развития предполагает введение в культуру *in vitro* фрагментов завязи либо изолированных семян. При изучении эффективности каждого способа было обнаружено, что при разрезе скальпелем завязи на фрагменты, большая часть семян травмируется и происходит быстрое разрастание соматических тканей, в результате чего ингибируется развитие эмбриоподобных структур. Использование культуры изолированных семян является трудозатратным методом, но позволяет снизить количество травмированных семян на 90%, по сравнению с культурой завязей. Был разработан способ малотравматичного выделения и введения в культуру *in vitro* изолированных семян, при котором количество неповрежденных семян увеличивается от 51,6% до 92,3%. Использование морфологических показателей (размер завязи и цвет околоцветника) для отбора оптимальной стадии женского гаметофита позволило увеличить количество индуцированных семян на 30%. При изучении влияния обработки повышенной температурой введенных в культуру *in vitro* изолированных семян, количество индуцированных семян при 32 °С на 3–7% больше по сравнению с температурной обработкой 28 °С. Добавление в индукционную питательную среду ТДЗ в концентрации 0,1 мг/л увеличило количество индуцированных семян на 20,88%, а при использовании 2,4-Д в концентрации 0,2 мг/л — на 42,08%, по сравнению с питательной средой не содержащей регуляторов роста растений. Использование 3,5 г/л Phytigel™ в качестве загустителя по сравнению с 7 г/л агар-агара обеспечивает большую скорость увеличения семян (от 1,7 до 2,6 раз), но при этом не влияет на индукцию гиногенного развития.

Использование разработанных элементов технологии позволило индуцировать образование эмбриоидов/каллуса, получить растения-регенеранты и отобрать 8 гиногенных линий огурца. Образцы отличались выравненностью по морфологическим признакам зеленца: характеру поверхности и окраске опушения зеленца, форме плода и другим хозяйственно-ценным признакам. Отмечено, что растения гиногенной линии были выравнены по морфологическим признакам, но могли различаться между собой по типу цветения и иметь тип цветения от смешанного до преимущественно женского типа цветения.

П. А. Борозан, С. И. Мустяца, А. Г. Спыну, В. Г. Спыну, М. Ю. Статник

ВЛИЯНИЕ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР НА ВСХОДЫ СЕМЯН РАННЕСПЕЛЫХ ЛИНИЙ КУКУРУЗЫ

*Институт Растениеводства «Порумбень»
Республика Молдова, 4834, Криуленский р-н, с. Пашканы,
e-mail: pantelimon.borozan@yahoo.com*

В северных районах в связи со сниженными тепловыми ресурсами, скороспелость и устойчивость гибридов к низким температурам являются важнейшими факторами достижения спелости и получения качественного зерна при уборке. Влияние температуры почвы на всхожесть семян кукурузы имеет большое значение для установления сроков посева, а также для различия по холодостойкости гибридов кукурузы в фазу прорастания семян. Кукуруза чаще попадает под воздействие низких температур в фазе прорастания семян. Холодостойкость характеризуется высокой генетической изменчивостью, хорошей наследственной передачей от родительских форм к гибридам и в основном определяется аддитивными генетическими эффектами. В целях оценки потенциала холодостойкости кукурузы в фазе прорастания семян и роста всходов были проведены опыты в полевых и лабораторных условиях. Материалом для изучения послужили 18 раннеспелых линий, которые представляют наибольший интерес для создания раннеспелых гибридов кукурузы. Опыт был проведен в поле ультраранним посевом в течение двух лет (2020–2021) и в лабораторных условиях при 8, 10 и 12 °С. Образцы были посеяны в три срока и в двух повторениях одинаковым количеством семян. Следует отметить, что температура почвы на глубине 6 см в этот период колебалась от 5,0 °С–10,5 °С утром и 7,0 °С–17,0 °С вечером, а средняя температура воздуха составляла 10,5 °С тепла. Низкие температуры, которые отмечались утром, были зарегистрированы в течение трех дней, когда температура воздуха на поверхности почвы снизилось до –1,2 °С. Отобранные линии относятся к четырем группам зародышевой плазмы: Кремнистая европейская, Айодент, Ланкастер и БССС-Б37. При определении холодостойкости учитывались три главных показателя: полевая всхожесть, темпы начального роста и динамика появления всходов. Средняя полевая всхожесть семян у линий, высеянных в первом сроке, составила 45,1% с колебаниями от 29,0% до 72,0%, а средняя лабораторная всхожесть — 60,4% с колебаниями от 33,0% до 90,0%. Средняя полевая всхожесть у линий, высеянных в разные сроки, составила 62,9% с колебаниями от 29,5% у линии МКР22, до 89,5% у линии МКР20. Низкая полевая всхожесть отмечена у линий МКР22, МКР60, МКР61 и 1234/06, особенно в первом сроке, где полевая всхожесть оказалась ниже 40%. Стабильная и высокая лабораторная и полевая всхожесть наблюдалась у линий МКР20, МКР27, МКР55 и МКР56. Стоит отметить превосходство по этому показателю у линий МКР20, МКР55 и МКР56, которые во всех сроках сева показали высокий процент всходов растений. Полученные результаты показывают, что семена при температуре 8–10 °С снижают процесс прорастания (79%) по сравнению с биологическим потенциалом, который проявляется при 25 °С, где средний процент всхожести был 94%. Большинство линий показали среднюю и хорошую всхожесть семян, кроме линий АН9171/06 и МКР60, у которых отмечена низкая всхожесть. В первом сроке посева наблюдается значительная разница между линиями. Анализируя полученные результаты, обнаруживается, что в третьем сроке проросшие семена увеличиваются на 29% по сравнению с первым сроком. Информация об устойчивости линий к низким температурам дает возможность создать раннеспелые гибриды, предназначенные для северных зон. Высокая устойчивость к низким температурам отмечалась у линий из кремнистой зародышевой плазмы, хотя были выделены и линии из зародышевой плазмы Ланкастер.

В. Н. Буштевич, С. И. Гриб, Е. И. Позняк

ГЕНОФОНД ТРИТИКАЛЕ ОЗИМОГО В БЕЛАРУСИ И РЕЗУЛЬТАТЫ ОЦЕНКИ ЕГО СЕЛЕКЦИОННОЙ ЦЕННОСТИ

*РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по земледелию»,
Республика Беларусь, 222160, г. Жодино, ул. Тимирязева, 1
e-mail: triticale@tut.by*

Для создания новых высокоурожайных сортов тритикале с высоким качеством зерна, устойчивых к абиотическим и биотическим стрессорам, первоочередным является изучение коллекционного материала и выделение новых источников хозяйственно-полезных признаков в почвенно-климатических условиях региона, где ведется селекция.

Генофонд тритикале в РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию» постоянно обновляется. Основу составляют отечественные сорта, созданные в лаборатории, а также сортимент из России, Украины, Польши, Германии, Франции и других стран. В период 2014–2020 гг. было изучено 430 образцов из 25 стран мира.

Создание собственного исходного материала, адаптированного к местным условиям и характеризующегося сочетанием положительных признаков и свойств, позволило широко использовать его в дальнейшей селекционной программе. Каждый из созданных нами 29 сортов озимого тритикале имеет не только большое значение в увеличении производства высококачественного зерна, но одновременно служит генетическим источником отдельных или комплекса селекционно-ценных признаков и свойств.

За период 2015–2021 гг. в гибридизацию было включено 233 образца из питомника генофонда, что составляет 34,5% от всех изученных в эти годы форм, и получено 920 гибридных комбинаций. В скрещивания привлекались исходные формы из различных эколого-географических групп, контрастные по морфо-биологическим характеристикам и обладающие комплексом селекционно-ценных признаков.

Селекционная ценность родительских компонентов у самоопыляющихся культур выявляется на основе анализа родословных, осуществляемого на разных этапах селекционного процесса, и свидетельствует о различной сортообразующей способности исходных форм: чем в большем числе сортов участвовал изучаемый генотип, тем выше его сортообразующая способность и селекционная ценность.

За годы исследований большинство сортообразцов конкурсного сортоиспытания (КСИ) было создано с участием польского сорта Grenado — 39 штук или 35,14% от всех сортообразцов. Определение показателя селекционной ценности родительских компонентов скрещивания на завершающих этапах селекционного процесса (конкурсное сортоиспытание) позволило выявить сорта с высокой селекционной (сортообразующей) способностью: Grenado, Dinaro, Moderato (POL), Дон 2872/11, Трибун, Корнет, Доктрина 110 (RUS), Ковчег (BLR).

Учитывая системный подход к формированию схем скрещиваний, нами проведено определение селекционной ценности родительских компонентов, используемых при гибридизации с использованием индекса PBV (количество комбинаций, прошедших в следующий этап селекционного цикла по отношению к общему количеству комбинаций с участием данного родителя в предшествующем питомнике).

Индекс PBV, рассчитанный по отношению количества образцов в КСИ к высеванным в селекционном питомнике, варьировал среди исходных родительских форм от 0,47 у сорта Dinaro до 4,17% у сорта Ацтек.

Е. В. Воронкова, О. Н. Гукасян, В. М. Жарич, А. С. Агеева, А. П. Ермишин

ВИДОСПЕЦИФИЧЕСКИЕ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫЕ ЛОКУСЫ *SOLANUM STOLONIFERUM* И ЕГО СУБГЕНОМОВ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ДИКОГО ВИДА В МЕЖВИДОВЫХ ГИБРИДАХ

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: e.voronkova@igc.by

Дикий аллотетраплоидный вид картофеля из Мексики *Solanum stoloniferum* (геномный состав AABB) считается одним из наиболее перспективных источников устойчивости к патогенам картофеля и является объектом интереса для упреждающей селекции. Его рассматривают как источник ценных генов устойчивости к фитофторозу, вирусам PVY, PVX и PVA, ряду бактериальных заболеваний, высоким температурам, нескольким видам тлей. Однако имеется ряд репродуктивных барьеров между этим видом и культурным картофелем *S. tuberosum* (геномный состав AAAA) в связи с наличием у него субгенома В, гомеологичного субгеному А. Интрогрессия к культурному картофелю генетического материала субгенома В, в котором были идентифицированы несколько ценных генов, как правило, сопряжена с необходимостью многократного беккроссирования культурным картофелем высокоплоидного селекционного материала на основе межвидовых гибридов с уровнем плоидности 6х, 5х, 4х и разными вариантами сочетания субгеномов дикого вида. Это усложняет задачу прослеживания наследования генетического материала субгенома В в беккроссных поколениях при маркер-опосредованном отборе.

Целью настоящего исследования был подбор ДНК-маркеров, специфичных для разных субгеномов *S. stoloniferum*, прежде всего, субгенома В. Так как количество известных ген-специфичных маркеров этого субгенома ограничено, для решения задачи целесообразно использовать различные серии ДНК маркеров к многочисленным моно- и многолокусным хромосомо-специфичным последовательностям, описанным для генома картофеля. В частности, для этой цели хорошо подходят хромосомоспецифичные маркеры микросателлитного (SSR) типа из так называемого PGI-набора (potato genetic identification kit), позволяющие идентифицировать все 12 хромосом гаплотипа культурного картофеля.

С использованием расширенного PGI-набора SSR маркеров было проведено исследование межвидовых гибридов на основе *S. stoloniferum* разного происхождения, уровня плоидности и геномного состава, которое позволило выявить ряд ДНК-маркеров, специфичных как для дикого вида в целом, так и для каждого из его субгеномов. Выявлены специфические локусы субгеномов А и В на хромосоме V, локусы субгенома В на хромосомах IX и XII, субгенома А — на хромосомах VIII и XI.

Несмотря на выявленные специфические локусы субгенома В, микросателлитный анализ коллекции показал отсутствие значительных различий в представленности специфичных для субгеномов А и В *S. stoloniferum* SSR-локусов у гибридов разной плоидности и геномного состава. Это обстоятельство говорит в пользу равноценной селекционной значимости обоих субгеномов аллотетраплоидного вида. Тем самым подтверждается перспективность получения и использования в селекции межвидовых гибридов, в том числе диплоидных, содержащих только субгеном А дикого вида, и не имеющих репродуктивных проблем, препятствующих эффективной гибридизации с культурным картофелем.

Работа выполнена при поддержке гранта БРФФИ (проект № Б19-116).

И. С. Гордей, О. М. Люсиков, Е. Б. Бондаревич, А. В. Соколюк

ГЕНЕТИКО-СЕЛЕКЦИОННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТЕТРАПЛОИДОВ ЯЧМЕНЯ (*HORDEUM VULGARE* L.), СОЗДАННЫХ МЕТОДОМ ПОЛИПЛОИДИЗАЦИИ ЗАКИСЬЮ АЗОТА (N₂O) В ЗИГОТЕ

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: i_gordej777@mail.ru

Поиск эффективного метода полиплоидизации для создания тетраплоидного ячменя (*Hordeum vulgare* L., $2n = 28$) и детальное изучение его генетико-селекционных признаков являются актуальной задачей, так как тетраплоидный ячмень пока не используется в сельскохозяйственном производстве.

Нами созданы тетраплоидные формы ячменя на основе 3-х диплоидных гибридов F₁ ($2n = 14$): Адамант × Колдун, Адамант × Аванс, Рейдер × RGT Planet Compass. Полиплоидизацию диплоидных гибридов проводили путем обработки растений закисью азота (N₂O) через 16–19 ч после опыления в специализированной камере при следующих параметрах: давление — 6 бар, продолжительность экспозиции — 24 ч. Эффективность полиплоидизации (ЭП) определяли путем отношения числа тетраплоидных зерновок (N_T) к общему числу полученных зерновок (N₀), выраженного в процентах (%): $ЭП = (N_T / N_0) * 100$. ЭП варьировала в зависимости от гибридной комбинации и времени от опыления до обработки растений закисью азота. Высокоэффективным оказался интервал обработки через 16–17 ч после опыления — ЭП составила от 57,3 до 94,9%. Обработка растений закисью азота через 18–19 ч после опыления оказалась низкоэффективной — ЭП составила не более 10%.

Для оценки цитогенетической стабильности созданных тетраплоидных форм ячменя проведен анализ мейоза основных стадий (метафаза I, анафаза I, метафаза II, анафаза II и тетрады микроспор) в материнских клетках пыльцы (МКП) первой генерации (поколения). В целом созданные тетраплоиды характеризовались достоверно ($P \leq 0,05$) большим числом нарушений на всех стадиях мейоза, чем исходные диплоиды. Так, доля МКП с нарушениями у тетраплоидов варьировала от 21,8 до 32,5% в зависимости от конкретной формы и стадии мейоза, у исходных диплоидов — от 2,7 до 5,3%. Нарушения в мейозе у тетраплоидных форм обусловлены наличием различных типов мультивалентных спариваний (бивалентные, тривалентные и тетравалентные), что в конечном итоге приводит к снижению озерненности колоса и продуктивности растений.

Проведено изучение селекционно-ценных признаков созданных тетраплоидов ячменя в сравнении с исходными диплоидами. Высота растений тетраплоидных форм составила 60,8–67,4 см, продуктивная кустистость — 7,0–7,7 ст./раст., длина колоса — 8,3–10,5 см, масса 1 000 зерен — 52,4–57,3 г, озерненность колоса — 37,3–43,2%. В результате анализа установлено, что тетраплоиды ячменя в сравнении с диплоидами характеризовались меньшей на 11,5–14,9 см высотой растений и на 48,2–55,5% озерненностью колоса, а также большей на 1,4–2,4 см длиной колоса и на 8,3–14,4 г массой 1 000 зерен.

Следовательно, созданный методом зиготической полиплоидизации тетраплоидный ячмень характеризуется пониженной цитогенетической стабильностью в мейозе и существенным изменением ряда селекционно-ценных признаков в сравнении с диплоидным, что необходимо учитывать в селекции. Полученные результаты послужат основой для углубленного изучения молекулярно-генетических изменений при полиплоидизации генома.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант № Б21-042).

С. И. Гордей, Э. П. Урбан, Д. Ю. Артюх

РЕЗУЛЬТАТЫ СЕЛЕКЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ВОЗДЕЛЫВАНИЯ ГИБРИДОВ F_1 ОЗИМОЙ РЖИ В БЕЛАРУСИ

*РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию»
Республика Беларусь, 222164, г. Жодино, ул. Тимирязева, 1
e-mail: hardzeisi@tut.by*

Использование гетерозиса является одним из наиболее актуальных направлений в повышении генетического потенциала продуктивности ржи. Селекционная работа по созданию гетерозисных гибридов F_1 озимой ржи в РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию» ведется с середины 90-х годов прошлого века. Используется два типа ЦМС: «Рампра» (Р-тип) и «Gülzower» (G-тип).

За годы исследований совместно с Институтом генетики и цитологии НАН Беларуси созданы коллекции самофертильных линий ржи, характеризующиеся высокой ОКС и СКС и слабым проявлением инбредной депрессии в поколениях, с использованием популяций различного экологического происхождения и эффективных источников самосовместимости (S; Z; T). Внутри созданных коллекций инцухт-линий с применением молекулярно-генетических методов (ДНК-типирование, ДНК-маркирование) выделены эффективные закрепители стерильности и восстановители фертильности для двух типов ЦМС. На их генетической основе с использованием ЦМС-форм ржи получен ряд экспериментальных гибридов F_1 , характеризующихся высоким уровнем конкурсного гетерозиса, высокостойкие.

В Государственный реестр сортов Республики Беларусь включены гибриды F_1 : Лобел-103, Галинка, Плиса. На 2022 г. включен новый гибрид F_1 Белги. Все вышеуказанные гибриды ржи созданы на генетической основе ЦМС Р-типа. Как известно, для данного типа ЦМС легко выделить закрепители стерильности благодаря высокой частоте генов-закрепителей и, соответственно, легко вести размножение материнских компонентов гибридов F_1 .

В настоящее время получены гибриды F_1 ржи на основе ЦМС G-типа. Несмотря на крайне низкую частоту генов-закрепителей стерильности, удалось выделить из популяций ржи ряд инцухт-линий, являющихся закрепителями стерильности. В ближайшие годы планируется передача нового гибрида F_1 с использованием G-ЦМС.

В последние несколько лет в с.-х. производстве существенно расширились площади под гибридами F_1 ржи. В предыдущем году они были высеяны на площади около 42 тыс. га, что составляет 12% от всей посевной площади ржи в Республике. В основном это гибриды F_1 немецкой селекции. Расширение площадей гибридов F_1 обусловлено более высоким генетическим потенциалом продуктивности по сравнению с популяционными сортами. Максимальная урожайность гибрида F_1 Белги — 101,0 ц/га получена на Горецкой сортоиспытательной станции в 2021 году.

Следует учитывать, что гибриды F_1 ржи более требовательны к технологии возделывания, а также необходимость ежегодной покупки дорогостоящих семян (более 5 000 руб. за 1 тонну) не всегда возможна и экономически целесообразна для многих с.-х. предприятий. Пересев гибрида на F_2 ведет к снижению продуктивности, высокому поражению спорыньей из-за недостатка пыльцы и большому расщеплению по высоте стеблестоя.

Возделывание гибридов F_1 ржи актуально для Беларуси, однако возделывать их должны экономически состоятельные с.-х. предприятия с наличием более-менее плодородных почв, с соблюдением всех технологических мероприятий. На низкоплодородных песчаных почвах, даже при соблюдении технологии, гибриды F_1 ржи не смогут проявить генетически обусловленный эффект гетерозиса.

Д. М. Даминова

ПРЕОДОЛЕНИЕ НЕСОВМЕСТИМОСТИ У ГИБРИДОВ ХЛОПЧАТНИКА

Научно-исследовательский институт селекции,
семеноводства и агротехнологии выращивания хлопка
Республика Узбекистан, 111218, г. Ташкент, ул. Университетская, 1
e-mail: daminova.d@mail.ru

Хотя возможности традиционной селекции использованы еще не до конца, современным требованиям уже не полностью отвечает медленный ее темп, связанный со сменой поколений, большим объемом и трудоемкостью селекционных экспериментов, нередко косвенные, неточные и даже интуитивные методы оценки селекционного материала. К этому следует добавить, что в ходе интенсивной селекции генетические ресурсы культивируемых видов хлопчатника в значительной степени исчерпаны. Поэтому в наших исследованиях особое значение было уделено созданию отдаленных разнохромосомных гибридов хлопчатника с целью переноса уникальных признаков дикорастущих видов в создаваемый исходный материал, от наличия которого зависит успех в работе по выведению сортов с требуемыми параметрами. Однако существуют генетико-физиологические препятствия, связанные с получением семян и растений из-за видовой несовместимости. В связи с этим возникает необходимость изменить подход к селекции этой культуры и перенести основное внимание на биотехнологические аспекты повышения продуктивности и устойчивости растений сортов хлопчатника с привлечением генетических ресурсов более далеких в систематическом отношении видов.

Так, нами были проведены исследования по преодолению барьера несовместимости при отдаленной межвидовой гибридизации хлопчатника и установлено, что использование экзогенных фитогормонов способствует стимуляции роста пыльцевых трубок, коррекции движения спермиев в зародышевом мешке, регуляции первых делений зиготы и первичного ядра эндосперма, что положительно сказывается на завязываемости семян. А метод эмбриокультуры *in vitro* дает возможность предотвращения отмирания ткани эндосперма и способствует дальнейшему росту и развитию гибридного зародыша на искусственной питательной среде.

Созданы оптимальные питательные среды для дорастивания недоразвитых зародышей из щуплых семян, показаны различные пути получения отдаленных межвидовых гибридов хлопчатника и разработана схема получения их амфидиплоидов и беккросспотомства.

Выявлены данные об аномальном формировании отдаленного межвидового эндосперма в зависимости от соотношения плоидностей тканей, участвующих в образовании межвидовых гибридных семян, нарушениях волн делений ядерного эндосперма при формировании семян, приводящих к их абортности и гибели. Усовершенствованы и апробированы методы, компенсирующие отрицательные проявления барьера несовместимости, которые позволили в трудных вариантах гибридизации ускоренно получить жизнеспособные стерильные гибриды F_1 между культивируемыми видами и устойчивыми к экстремальным условиям дикими видами хлопчатника и их фертильные амфидиплоиды. На их основе синтезированы ряд интрогрессивных линий, которые использованы в качестве доноров ценных признаков диких видов для создания новых сортов. Благодаря генетическому потенциалу исходных форм наши линии отличаются высокими адаптационными свойствами: устойчивостью к вертицеллезному вилту, насекомым вредителям, засоленности почвы, дефициту влаги и наряду с этим обладают высоким качеством волокна IV типа.

Е. А. Джос^{1,2}, О. Н. Пышная¹, М. А. Филюшин²

ОЦЕНКА ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА ПЕРЦА КЛАССИЧЕСКИМИ И МОЛЕКУЛЯРНЫМИ МЕТОДАМИ В СЕЛЕКЦИИ НА КАЧЕСТВО

¹ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства»

РФ, 143080, Московская обл., Одинцовский р-н, ул. Селекционная, 14

e-mail: vniissok@mail.ru

²ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН

РФ, 119071, Москва, ул. Ленинский пр., д. 33, с. 2

e-mail: michel7753@mail.ru

Качество продуктов растительного происхождения является важным критерием для потребителя. Это относится и к плодам перца (*Capsicum*), которые широко используются во всем мире. В последние годы селекция на повышенное содержание антиоксидантов в пищевых продуктах растительного происхождения приобретает особую актуальность. Это связано с ростом различных заболеваний среди населения, таких как сердечно-сосудистые, онкологические, диабет и другие. Одним из показателей, определяющих биохимическую ценность плодов перца, является содержание в них различных форм каротиноидов, важнейшей биологической функцией которых в организме человека является провитаминная (А) и антиоксидантная активность. В селекции для ускорения и достижения максимального эффекта при создании новых селекционных достижений классические методы сочетают с маркер-сопутствующим отбором. Использование молекулярных маркеров дает возможность отобрать формы с целевыми аллелями качества на ранних стадиях развития растений. Целью данных исследований являлась оценка селекционного материала перца с комплексом генов, определяющих качество плодов с применением классических и молекулярных методов. ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства» совместно с ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН проведена оценка созданного селекционного материала с целью отбора форм для селекции на качество. Для этой цели проведен биохимический анализ плодов перца (*Capsicum*) различных видов, контрастных по окраске образцов как в технической, так и в биологической спелости, определен паттерн изменения содержания хлорофиллов, каротиноидов и антоцианов в кожце и мякоти плодов в динамике их созревания. Показано, что кожца и мякоть имеют различный состав пигментов и паттерн их накопления. Наиболее высокое содержание суммы каротиноидов было отмечено у Л-СК ($0,745 \pm 0,037$ мг/г), Л-Отелло-1 ($0,723 \pm 0,035$ мг/г), Л-Сибиряк-3 ($0,499 \pm 0,025$ мг/г), Л-Устойчивая ($0,340 \pm 0,017$), Л-Желтый букет ($0,261 \pm 0,013$). Максимальное содержание суммы антиоксидантов (ССА, мг. экв. ГК/г) также отмечено у вышеперечисленных линий (от $1,18 \pm 0,06$ до $1,27 \pm 0,06$). Определены профили экспрессии структурных генов путей биосинтеза каротиноидов (*PSY1*, *PSY2*, *LCYb* и *CCS*) и антоцианов (*CHS*, *F3'5'H*, *DFR*, *ANS* и *UFGT*). Выявлена положительная корреляция между экспрессией генов *PSY1*, *LCYb* и *CCS* и содержанием суммы каротиноидов в мякоти плодов, а также между экспрессией *CCS* и содержанием каротиноидов в кожце плодов. Отобрана линия Л-Отелло-1 с максимальным уровнем экспрессии *PSY1* в мякоти (биологическая спелость). Кроме того, у Л-Отелло-1 и Л-СК с фиолетовой окраской плодов в технической спелости выявлена экспрессия генов *CHS*, *F3'5'H*, *DFR*, *ANS* и *UFGT*, коррелирующая с высоким содержанием антоцианов в кожце плода. Таким образом, показано, что окраска кожцы и мякоти плодов перца регулируется независимо и определяется соотношением основных типов пигментов и активностью генов их биосинтеза. Полученные зависимости можно использовать при отборе форм с высокими биохимическими показателями в селекции на качество.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 19-16-00016.

Е. В. Дрозд, О. Г. Бабак, Н. А. Некрашевич, Н. В. Анисимова, К. К. Яцевич,
А. В. Кильчевский

СОЗДАНИЕ НОВОГО СЕЛЕКЦИОННОГО МАТЕРИАЛА ТОМАТА С ВЫСОКИМИ АНТИОКСИДАНТНЫМИ СВОЙСТВАМИ

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: e.drozd@igc.by

Поиск полиморфизма генов, влияющих на накопление каротиноидов и антоцианов, и выявление ДНК-маркеров, связанных с регуляцией процесса их накопления, является важным в селекции томата, направленной на создание продуктов для функционального питания. При этом важным, с точки зрения производителя, в селекционном плане является создание форм для различных условий возделывания — как в защищенном, так и открытом грунте. С точки зрения потребителя желаемым является расширение предлагаемых на рынке форм не только по качеству плодов, но и по их форме, размеру. В связи с этим целью данного исследования был поиск новых полиморфизмов генов, определяющих качество плодов, и создание нового селекционного материала томата с различным сочетанием аллелей, определяющих качественный и состав каротиноидов и антоцианов, габитус растения и устойчивость к болезням.

Выполнено ресеквенирование генов R2R3MYB транскрипционных факторов (ТФ) *Ant1* и *An2*, регулирующих накопление антоцианов, гена *GLK* MYB ТФ, регулирующего общее накопление пигментов и их характер распределения в плодах. Выявлены в изучаемой коллекции образцов томата 2 аллеля гена *Ant1*: *Ant1* и *ant1*, 2 аллеля гена *An2*: *Myb75* и *An2-Aft*, а также новый аллель гена *GLK U-del52*. Разработаны SCAR маркеры для их выявления, успешно апробированы методики ДНК-типирования аллелей на линейном материале томата.

Для создания крупноплодных форм томата для защищенного и открытого грунта, а также форм томата черри использовались популяции F_2 гибрида крупноплодного томата Дачный (*t*, *y*, *ant1*, *U-del52*, *Sp/sp*) и томата черри Индиго (*b*, *Y*, *Ant1*, *U*, *Sp*); популяции F_2 гибридов томата черри: 19/19-6 × Индиго, Индиго × 19/19-6. Для отбора новых ценных форм выполнен анализ образцов расщепляющихся поколений с помощью молекулярных маркеров признаков качества плодов и устойчивости к болезням.

Анализ результатов молекулярного маркирования генов *Ant1* и *An2* в популяции F_2 Дачный × Индиго показал совместное наследование аллеля *Ant1* с аллелем *An2-Aft*, что может быть связано с их близким расположением на хромосоме. Из изучаемых популяций отобраны формы с различным комплексом аллелей, определяющих накопление пигментов: *Y/Ant1/An2-Aft/Sp/U-del52/Ph3*, *Y/t/Ant1/An2-Aft/sp/Sp/U/Ph3*, *y/Ant1/An2-Aft/sp/U-del52/Ph3*, *Y/t/ant1/Myb75/Sp/U/Ph3*, *Y/ant1/Myb75/Sp/U-del52/Ph3*. Из расщепляющихся популяций F_2 гибридов 19/19-6 × Индиго и Индиго × 19/19-6 отобраны формы с комбинациями аллелей: *Y/t/Ant1/U/Ph3/Tm-2/I-2*, *y/Ant1/U-del52/Ph3/Tm-2/I-2*, *Y/t/ant1/U/Ph3/I-2*.

Данные формы будут использованы в дальнейших исследованиях по взаимодействию генетических систем накопления пигментов и в селекционном процессе, направленном на создание новых сортов и гибридов с высоким содержанием каротиноидов и антоцианов, а также устойчивостью к болезням.

Е. В. Дубина, Ю. А. Макуха, С. О. Корж, С. А. Лесняк, О. Л. Горун, Е. И. Овод

ДНК-ТЕХНОЛОГИИ В СЕЛЕКЦИИ РИСА И ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР

ФГБНУ «Федеральный научный центр риса»
Россия, 350921, г. Краснодар, пос. Белозерный, 3
e-mail: lenakrugl@rambler.ru

Устойчивое наращивание конкурентоспособной сельскохозяйственной продукции при сокращении и потреблении ресурсов и затрат возможно за счет ускорения селекционного процесса. В связи с этим актуальное значение приобретают новейшие биотехнологические подходы и молекулярно-генетические методы. Использование ДНК-технологий в селекции сельскохозяйственных растений позволяет значительно расширить область научных исследований: от поиска и изучения генетических ресурсов растений с комплексом хозяйственно-ценных признаков, устойчивых к био- и абиотическим стрессорам до создания новых генотипов с заданными свойствами (Дубина и др., 2017). В лаборатории информационных, цифровых и биотехнологий ФНЦ риса с 2007 года активно ведутся работы по созданию сортов риса, устойчивых к самому опасному во всем мире заболеванию — пирикулярриозу, с применением методов молекулярного маркирования. Совместно с селекционерами центра (Шиловским В. Н., Зеленским Г. Л.), а также коллегами из АНЦ «Донской» (Костылевым П. И.) создан ряд сортов (Альянс, Ленарис, Капитан, Пируэт, Утёс, Восход) с генами *Pi*, обеспечивающих защитные реакции растений риса от *Pyricularia oryzae* Cav. Введение генов (функции) устойчивости к биотическим и абиотическим стрессорам, а также пирамидирование нескольких целевых генов в одном генотипе считается актуальным и перспективным направлением в мировой селекции. Структурная и функциональная идентификация целевых генов, знание их аллельного разнообразия имеют первостепенное значение для выращивания риса и овощных культур — культур, во многом определяющих продовольственную безопасность Краснодарского края и страны в целом. В рамках аспирантских программ под руководством доктора биологических наук, профессора РАН Дубиной Е. В. ведутся научные исследования по разработке и внедрению информативных маркерных систем, обеспечивающих четкий контроль целевых генов и их аллельное состояние в полученном гибридном материале риса и овощных культур (томаты, капуста белокочанная). Разработаны маркерные системы по идентификации генов *Sub* для риса, отвечающих за признак толерантности к длительному затоплению водой как фактору борьбы с сорными растениями, которые являются прямыми конкурентами с культурой за свет, минеральное питание и пространство. Кроме того, выявлены информативные маркерные системы по идентификации гена *Waxy*, отвечающего за пищевые и технологические качества приготовленного риса. Разработана методология оценки селекционного материала капусты белокочанной на устойчивость к сосудистому бактериозу и фузариозу на основе ДНК-маркирования. Определены информативные кандидатные ДНК-маркерные системы, четко идентифицирующие гены *Xcc* (сосудистый бактериоз) и *Foc1* (фузариоз). В рамках государственной программы «Приоритет-2030», а также при поддержке Кубанского научного фонда, выполнены научные работы по изучению полиморфизма SSR-локусов устойчивости к ВТМ, фузариозу, фитофторозу, альтернариозу томата. Подобраны и внедрены в селекционный процесс set информативных ДНК-маркерных систем для идентификации целевых генов на данные заболевания. Наличие генетических маркеров, тесно сцепленных с целевым признаком, делает возможным применение маркер-опосредованной селекции для уменьшения или исключения неопределенностей, вызванных влиянием факторов внешней среды и путем пирамидирования генов позволяет создавать селекционные формы, сочетающие высокие технологические качества и устойчивость к неблагоприятным факторам среды.

Н. И. Дубовец¹, В. Е. Шимко¹, Е. Б. Бондаревич¹, С. И. Гордей²

СКРИНИНГ ГЕНОФОНДА ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ НА АЛЛЕЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ГЛАВНЫХ ЛОКУСОВ ТОЛЕРАНТНОСТИ К ХОЛОДУ

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220027, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: N.I.Dubovets@igc.by

²Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию
Республика Беларусь, 222160, г. Жодино, ул. Тимирязева, 1

В настоящее время в селекции сельскохозяйственных культур особое внимание уделяется созданию сортов, способных противостоять воздействию абиотических стрессов. Для озимой пшеницы одним из главных факторов адаптивности, который определяет степень реализации потенциала продуктивности данной культуры, является выживание в зимний период (зимостойкость). Комплексная природа и сложный генетический контроль признака, а также его подверженность сильному влиянию условий среды существенно затрудняют селекцию на зимостойкость с использованием традиционных подходов. Повысить эффективность селекционной работы в этом направлении можно за счет применения современных методов ДНК-маркирования. На сегодняшний день разработан ряд ДНК-маркеров к локусам, ассоциированным с зимо- и морозостойкостью, среди которых особая роль отводится локусам *FR1(VRN1)* и *FR2*. Это обусловлено тем, что, согласно литературным данным, естественная изменчивость признака обусловлена главным образом аллельными различиями в данных двух локусах. При этом локус *FR1(VRN1)* регулирует переход между вегетативной и репродуктивной стадиями, а *FR2*-локус, включающий несколько tandemно дублированных факторов транскрипции (CBF), регулирует экспрессию генов толерантности к холоду. Учитывая вышеизложенное, мы поставили перед собой задачу провести скрининг генофонда озимой мягкой пшеницы, задействованного в РУП «НПЦ НАН Беларуси по земледелию» в селекции на повышение зимостойкости, на аллельное состояние главных локусов толерантности к холоду. В данном сообщении приводятся результаты анализа локуса *Fr-B2*. У мягкой пшеницы в данном локусе находятся 11 генов, организованных в три кластера: проксимальный (*CBF-17*, *CBF9*, *CBF-4*, *CBF-2*), центральный (*CBF-14*, *CBF-15*, *CBF-12*) и дистальный (*CBF-16*, *CBF-13*, *CBF-3*, *CBF-10*). Установлено, что делеции части генов этого локуса приводят к существенному снижению зимостойкости пшеницы, причем известно три типа таких делеций, одна из которых включает 6 генов (*CBF-4*, *CBF-2*, *CBF-14*, *CBF-15*, *CBF-12*, *CBF-16*), вторая — 9 генов (*CBF-4*, *CBF-2*, *CBF-14*, *CBF-15*, *CBF-12*, *CBF-16*, *CBF-13*, *CBF-3*, *CBF-10*), а третья — все 11 генов. Исходя из этого, используя разработанные Pearce et al. (2013) праймеры CBF-B4, CBF-B9pair-1, CBF-B10 и CBF-B12pair-2, можно выявить наличие/отсутствие в генотипах всех трех типов делеций, причем об их отсутствии будет свидетельствовать синтез фрагментов размером 159, 235, 108 и 329 п. н. соответственно. Проведенный нами молекулярный анализ 7 сортов и 36 селекционных образцов озимой мягкой пшеницы с использованием озвученных выше праймеров показал, что все исследованные генотипы содержат в локусе *Fr-B2* продукты амплификации, свидетельствующие об отсутствии всех возможных типов делеций. Полученные результаты соответствуют литературным данным, согласно которым делеции *Fr-B2*-локуса встречаются значительно чаще среди яровых сортов. По-видимому аллель дикого типа без делеций является важным компонентом зимостойкости и сильно фиксируется в генотипе озимой пшеницы.

Н. Г. Дуплий, А. В. Усатов

ДЕЙСТВИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНО-НАПРАВЛЕННОГО АНТИОКСИДАНТА SKQ3 НА СКОРОСТЬ РОСТА ЯЧМЕНЯ В УСЛОВИЯХ ЗАСУХИ И ПОВЫШЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ ОКСИДА ЦИНКА

Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского ЮФУ

Россия, 344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки 194/1

email: duplii@rambler.ru

В последние годы возрастает интерес к изучению окислительного стресса растений. При воздействии стрессовых факторов нарушается баланс между образованием и элиминацией активных форм кислорода (АФК), защитой от которых служат антиоксиданты. Поиск и внедрение в производство препаратов на основе антиоксидантов имеет большое значение для фундаментальной науки и агротехнологии. Научным коллективом под руководством академика В. П. Скулачева был синтезирован ряд соединений, на основе пластохинона, относящихся к митохондриально-направленным антиоксидантам, получившим название SkQ. Одним из наиболее эффективных соединений этой группы с ионом трифенилфосфония оказался SkQ3.

В работе было изучено влияние соединения SkQ3 на устойчивость ярового ячменя (*Hordeum vulgare* L.) к засухе и загрязнению оксидом цинка. Засуху имитировали выращиванием растений в течение 20 дней в 15% водном растворе полиэтиленгликоля (ПЭГ 6 000). Для изучения действия оксида цинка на ячмень в водный раствор вносили ZnO в концентрациях 300 мг/л и 2 000 мг/л.

В результате экспериментов было показано, что SkQ3 повышает скорость роста растений в стрессовых условиях. В контроле обработка семян SkQ3 не оказала влияния на измеряемые количественные показатели ячменя. Также на сырую и сухую массу ростков и корней не оказала влияния обработка 0,5 нМ раствором SkQ3 в 15% растворе ПЭГ. Однако при проращивании растений в 15% растворе ПЭГ совместно с 2,5 нМ раствором SkQ3 увеличивалась сырая масса ростков и корней на 31,7% и 51,2%, а сухая масса — на 39,6% и 51,0% соответственно, относительно не обработанных SkQ3 значений. При внесении ZnO в концентрации 300 мг/л исследуемые показатели проростков ячменя не изменяются, но при увеличении концентрации ZnO до 2 000 мг/л сырая и сухая масса корней растений, обработанных 2,5 нМ раствором SkQ3, увеличилась на 20,5% и 17,1% соответственно, относительно не обработанных растений.

Экспрессии генов окислительного стресса (*HvSodA1*, *HvSodB*, *HvGR*, *HvGST1*, *HvGST6*, *HvCat1*, *HvCat2*, *HvApx*) у проростков ячменя при воздействии засухи и загрязнения частицами ZnO в листьях при добавлении SkQ3 изменялась неоднозначно. Так, уровень экспрессии генов *HvSod*, *HvGR* и *HvApx* снижался в 0,5–6 раз, а генов *HvCat1*, *HvCat2* и *HvGST6*, наоборот, повышался в 0,5–2 раза в условиях засухи, а при воздействии частиц цинка уровень экспрессии всех исследуемых генов, за исключением *HvCat2*, повышался. Однако в корнях растений, обработанных раствором SkQ3, уровень экспрессии всех исследуемых генов при засухе снижался в 7–11 раз относительно не обработанных SkQ3 проростков и в 10–18 раз при загрязнении частицами ZnO. Вероятно, это связано с тем, что в зеленых листьях растений существенную роль в генерации АФК играют хлоропласты и пероксисомы, тогда как основными поставщиками АФК в корнях являются митохондрии, куда адресно проникают молекулы SkQ3 и способствуют ингибированию чрезмерного накопления АФК в корнях растений. Таким образом, соединение SkQ3, синтезированное на основе пластохинона, можно рекомендовать для практического использования в качестве вещества, повышающего устойчивость растений к неблагоприятным абиотическим факторам.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания в области научной деятельности № 0852-2020-0029.

Н. А. Еловская¹, В. В. Николайчук², Ж. Н. Калацкая¹

ВЛИЯНИЕ КОНЬЮГАТА ХИТОЗАН-ФЕРУЛОВАЯ КИСЛОТА НА РОСТ И РАЗВИТИЕ МИКРОКЛОНОВ КАРТОФЕЛЯ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO* ПРИ ОСМОТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

¹Институт экспериментальной ботаники НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: yalouskaya92@mail.ru

²Институт химии новых материалов НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220141, г. Минск, ул. Ф. Скорины, 36

Использование в сельском хозяйстве природных соединений в качестве регуляторов роста и индукторов устойчивости растений является активно развивающимся направлением современных исследований. Зарегистрированные препараты на основе хитозана (Нарцисс, Экогель) или оксикоричных кислот (Циркон) рекомендуются в качестве активаторов роста и развития многих сельскохозяйственных культур, а также повышают их устойчивость к стрессовым факторам разнообразной природы. Химическая модификация хитозана с использованием фенольных соединений способствует не только стабилизации фенольных соединений, улучшению их биодоступности, но и позволяет получить вещество с новыми свойствами.

В связи с этим цель работы заключалась в исследовании влияния конъюгатов на основе хитозана и оксикоричных кислот на развитие микроклонов растений картофеля в оптимальных условиях и в условиях осмотического стресса в культуре *in vitro*.

Объект исследования — растения-регенеранты картофеля сорта Бриз из коллекции НПЦ НАН Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству. Материнские растения-регенеранты картофеля клонировали на питательные среды Мурасиге-Скуга (МС-среда) и выращивали в течение 4 недель, после чего проводили измерение морфометрических параметров микроклонов и замену стандартной МС-среды на модифицированные, включающие конъюгаты хитозана с феруловой кислотой (Хит-ФК), отдельные соединения и их механические смеси. При этом часть микроклонов культивировали в стрессовых условиях, создаваемых добавлением в МС-среду высокомолекулярного полиэтиленгликоля (ПЭГ) с $M = 6\,000$. Содержание ПЭГ в МС-среде составляло 5%, концентрация соединений на основе хитозана и ФК — 0,025 мг/мл. Растения выращивались при температуре 23–25 °С, освещенности 3 000 люкс и фотопериоде 16/8 часов (день/ночь) в течение 2 недель, после чего проводилась оценка влияния внесенных в питательную среду соединений на основе хитозана и оксикоричных кислот на морфометрические показатели и содержание пролина в стеблях микроклонов картофеля в оптимальных и стрессовых условиях.

В оптимальных условиях культивирования конъюгат Хит-ФК стимулировал развитие микроклонов картофеля, активизируя ростовые процессы и накопление биомассы как по сравнению с контрольными растениями, так и по отношению к другим опытным вариантам. Причем уровень пролина в стеблях микроклонов оставался на уровне контрольных значений. В условиях длительного стресса Хитозан и смесь хитозана с ФК усиливали негативное воздействие, вызванное ПЭГ: наблюдалось замедление ростовых процессов. Конъюгат Хит-ФК способствовал формированию устойчивости микроклонов, усиливая синтез пролина и способствуя активации роста и накопления биомассы микроклонами по сравнению со стрессовым контролем (ПЭГ).

Таким образом, конъюгат хитозана с феруловой кислотой может использоваться как стимулятор роста микроклонов в культуре *in vitro* при микроклональном размножении растений, вероятно, в том числе способствуя формированию более стрессоустойчивых растений.

Работа выполнена при частичной поддержке гранта ГКНТ № Б21УЗБГ-019.

А. П. Ермишин¹, Г. И. Пендинен², А. С. Агеева¹, В. И. Лукша¹, А. В. Левый¹,
Е. В. Воронкова¹, О. Н. Гукасян¹, В. М. Жарич¹, Т. А. Гавриленко²

ПЕРЕНОС ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА СУБГЕНОМА В *S. STOLONIFERUM* В ГЕНОМ КУЛЬТУРНОГО КАРТОФЕЛЯ ПРИ БЕККРОССИРОВАНИИ МЕЖВИДОВЫХ ГИБРИДОВ

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: Ermishin @igc.by

²ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н. И. Вавилова
Российская Федерация, г. Санкт-Петербург 190000, ул. Большая Морская, 42, 44

Одним из факторов, затрудняющих использование ценного генофонда дикого аллотетраплоидного вида картофеля *S. stoloniferum* (геномный состав AABB) в селекции, являются геномные различия с культурным картофелем *S. tuberosum* (AAAA). Однако в литературе практически отсутствует информация о том, какие ценные гены этого дикого вида локализованы на субгеноме В и каким образом происходит их перенос в геном *S. tuberosum* в процессе беккроссирования межвидовых гибридов.

В настоящем исследовании впервые использован оригинальный подход для определения субгеномной локализации генов *S. stoloniferum*, основанный на различном характере их наследования в первом поколении беккросса (BC₁) 6х межвидовых гибридов (AAAABB) в зависимости от расположения на субгеноме А или субгеноме В. Показано, что маркеры генов устойчивости к фитофторозу *Rpi-sto1*, *R3b*, *R2*, генов устойчивости к PVY *R_ysto*, *R_yadg*, гена устойчивости к раку картофеля *Sen2* локализованы на субгеноме В, а гена *R_yche* устойчивости к PVY — на субгеноме А. Наследование маркеров генов субгенома В в BC₂ происходило в основном по типу случайной передачи потомству хромосом этого генома. Высокая степень соответствия выявленного характера наследования генов субгенома В в BC₁ ожидаемому (отсутствие расщепления) означает, что си-напсис хромосом в мейозе 6х межвидовых гибридов преимущественно интрагеномный, отмечены лишь единичные случаи гомеологичной рекомбинации хромосом.

С использованием GISH анализа (*genomic in situ hybridization*) мейоза гибрида (AAAABB) и растений BC₁ и BC₂ показано преимущественное спаривание гомологичных хромосом, в беккроссных поколениях хромосомы субгенома В были представлены в основном унивалентами. У всех изученных растений наряду с гомологичным спариванием выявлены гомеологичные межгеномные (А-В) ассоциации. У двух гибридов BC₁ и двух гибридов BC₂ выявлены 1–2 рекомбинантные А/В хромосомы, что указывает на возможность интрогрессии генетического материала отдельных хромосом субгенома В *S. stoloniferum* в геном А культурного картофеля. Выявлены гибриды BC₂ с повышенной представленностью хромосом генома А, полученные при беккроссировании 3EBN гибридов BC₁ 4EBN сортами картофеля, что, очевидно, связано с отбором гамет с повышенным EBН за счет преобладания у них хромосом генома А.

В BC₃ отобраны генотипы с комплексом признаков культурного картофеля (относительно высокой продуктивностью, короткими столонами, клубнями правильной формы с мелкими глазками), обладающие высокой полевой устойчивостью к фитофторозу и высокой мужской фертильностью.

Работа выполнена при поддержке грантов БРФФИ (проект № Б20Р-418) и РФФИ-Бел-а (проект № 20-54-00043).

А. Н. Заинчковская¹, Е. А. Фомина¹, Л. В. Гончарова²,
П. А. Пашкевич², Л. С. Сидор²

ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ОБРАЗЦОВ ДЕРЕВЬЕВ РОДА *MALUS* СТАРОГО ПЛОДОВОГО САДА ЦЕНТРАЛЬНОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА НАН БЕЛАРУСИ ПРИ ПОМОЩИ SSR МАРКЕРОВ, ОГРАНИЧИВАЮЩИХ ТЕТРАНУКЛЕОТИДНЫЕ ПОВТОРЫ

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: A.Zainchkovskaya@igc.by

²Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси
Республика Беларусь, 220012, г. Минск, ул. Сурганова, 2В

Яблоня является главной плодовой культурой в умеренной климатической зоне и одной из самых важных плодовых культур семейства розоцветных. На сегодняшний день насчитывается более 10 тысяч сортов яблони, созданных и выращиваемых в разных странах мира. В связи с этим идентификация различных сортов данной культуры и сохранение ее уникальных генетических ресурсов является важной задачей для пловодоводов. В настоящее время в установлении сортовой и видовой принадлежности представителей рода *Malus* существенную помощь могут оказать методы ДНК идентификации, основанные на использовании специально подобранных SSR маркеров.

Целью данной работы являлась разработка SSR маркеров, ограничивающих тетра nukлеотидные повторы, изучение с их помощью генетического разнообразия образцов деревьев рода *Malus* старого плодового сада Центрального ботанического сада НАН Беларуси и выделение ценных генотипов с уникальным составом SSR аллелей.

Для идентификации на молекулярном уровне генотипов яблони было разработано 32 маркера-кандидата, среди которых было отобрано 8 SSR-маркеров: MC03L1, MC04L1, MC06L2, MC08L01, MC09L04, MC10L1, MC11L02 и MC17L01. В общей сложности среди 101 образца деревьев яблони старого плодового сада Центрального ботанического сада НАН Беларуси с их помощью было выявлено 78 аллелей и 166 их сочетаний. Количество аллелей, выявляемых каждым из 8 SSR-маркеров, отличается. Наименьший уровень полиморфизма наблюдается в локусе MC17L01. В нем обнаружено 3 аллеля, встречающихся в 6 комбинациях у 101 подвергнувшегося анализу дерева. Максимальный уровень полиморфизма был выявлен с помощью маркера MC06L2. Применение данного маркера позволило обнаружить 15 аллелей, встречающихся в 35 комбинациях. Данные позволяют заключить, что выбранного набора молекулярных маркеров достаточно, чтобы разделить уникальные сорта или образцы. Результаты SSR анализа показали, что часть деревьев имеет одинаковый генотип. Состав аллелей был идентичен у образцов 1–3, 4–6, 9 и 10, 11 и 12, 14 и 15, 16–18, 22–24 и других. В общей сложности среди 101 образца было обнаружено 66 различных генотипов. Максимальное количество деревьев, относящихся к одному и тому же генотипу — 5. Это деревья с номерами 25, 26, 27, 28 и 29. Часть деревьев характеризовалась уникальными генотипами, как, например, 7, 8, 13, 19, 20 и др. По три дерева входило в состав 12 генотипов.

В целом полученные результаты указывают на высокий уровень генетического разнообразия генотипов исследованных деревьев. Образцы, относящиеся к одному генотипу, характеризуются уникальным набором аллелей, выявляемых с помощью 8 SSR маркеров. Таким образом, использование SSR маркеров позволило оценить генетический потенциал исследованных деревьев плодового сада, расположенного на территории Центрального ботанического сада НАН Беларуси, выделить уникальные генетические ресурсы, систематизировать имеющийся материал и провести ревизию повторяющихся образцов.

Т. В. Заячковская

ИНДУКЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ СЕМЯПОЧЕК ОГУРЦА (*CUCUMIS SATIVUS* L.) В ЗАВИСИМОСТИ ОТ КОНЦЕНТРАЦИИ НИТРАТА СЕРЕБРА И ТИПА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ В КУЛЬТУРЕ НЕОПЛОДОТВОРЕННЫХ СЕМЯПОЧЕК *IN VITRO*

ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства»

Россия, 143072, Московская обл., Одинцовский район, п. ВНИИССОК, ул. Селекционная, д.14

e-mail: taivka34@mail.ru

При культивировании растений *in vitro* в замкнутом пространстве накапливается в большом количестве этилен, который ингибирует удлинение проростков, останавливает рост листьев и вызывает задержку митозов. В составе индукционной питательной среды нитрат серебра сокращает время, необходимое для прорастания эмбрионов огурца из фрагментов завязей и увеличивает выход эмбрионов с одного фрагмента завязи (Diao et al., 2009). В культуре завязей китайского длинноплодного огурца AgNO_3 в диапазоне от 5 до 10 мг/л был наиболее эффективен в индуцировании роста эмбрионов и растений (Li et al., 2013). Изучение влияния AgNO_3 на индукцию гиногенного развития огурца, подбор оптимальной концентрации в питательной среде является актуальной задачей для повышения эффективности технологий получения удвоенных гаплоидов.

Добавление нитрата серебра в концентрациях 5 мг/л, 10 мг/л, 15 мг/л в безгормональную индукционную питательную среду ИМС с 3% сахарозой и 7 г/л агара и дополненную регуляторами роста TDZ и 2,4-D показало, что все три концентрации нитрата серебра оказали стимулирующее влияние на выход индуцированных семян огурца. Самый высокий выход индуцированных семян у обоих генотипов отмечен на индукционной питательной среде с 0,2 мг/л TDZ: у № 206 — $10,7 \pm 0,9$ штук с одной чашки Петри при сочетании с 10 мг/л AgNO_3 ; у № 290 — $11,7 \pm 0,3$ штук с одной чашки Петри при сочетании с 15 мг/л AgNO_3 . У образца № 206 добавление 10 мг/л нитрата серебра при этом увеличивало выход индуцированных семян с одной чашки Петри на 69,8%, у образца № 290 добавление 15 мг/л AgNO_3 — на 80,7% по сравнению с контролем. Наибольшее количество семян зеленой окраски, сохранивших свой индукционный потенциал, у обоих генотипов отмечено на средах с нитратом серебра. Включение нитрата серебра в питательные среды с регуляторами роста с 0,2 мг/л TDZ и 2 мг/л 2,4-D способствовало увеличению индукционного периода культивируемых семян по сравнению с контролем (без нитрата серебра). Так, через шесть недель культивирования наибольшая доля индуцированных семян у № 290 составила 43% на питательной среде ИМС при сочетании 0,2 мг/л TDZ с 15 мг/л AgNO_3 ; 35% — при сочетании 0,2 мг/л TDZ с 10 мг/л AgNO_3 по сравнению с контролем (12%). У образца № 206 — 31% на питательной среде ИМС при сочетании 0,2 мг/л TDZ с 10 мг/л AgNO_3 ; 24% — при сочетании 0,2 мг/л TDZ с 15 мг/л AgNO_3 по сравнению с контролем (11%). При использовании жидкой питательной среды В5 с 0,4 мг/л TDZ с включением нитрата серебра наибольшее количество (10,7 шт. на чашку Петри) отмечено при включении 15 мг/л нитрата серебра. Семяпочки увеличивались в значительно большей степени в размерах, по сравнению с агаризованной средой. При этом наибольший размер (по площади) семяпочки огурца имели на среде с включением 10 мг/л нитрата серебра. Таким образом, использование ингибитора синтеза этилена — AgNO_3 , в концентрациях 10 и 15 мг/л является наиболее эффективным в индуцировании роста и развития семян огурца на жидкой и твердой агаризованной питательных средах.

С. И. Ивановская, С. В. Пантелеев

АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА ДНК-ЛОКУСОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ДЛИНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗНОГО ВОЛОКНА СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ

*Институт леса НАН Беларуси
Республика Беларусь, 246001, г. Гомель, ул. Пролетарская, 71
e-mail: isozyme@mail.ru*

Для нужд целлюлозно-бумажной промышленности экономически целесообразным является использование древесины с особыми технологическими свойствами, такими как увеличенная длина целлюлозного волокна, являющаяся одним из главных факторов, влияющих на качество бумаги. Изучение наследуемости признака длины целлюлозных волокон и выявление молекулярных маркеров, ассоциированных с этим признаком, позволяет проводить отбор деревьев для создания специализированных лесных плантаций.

В качестве экспериментального материала для получения образцов ДНК использовались хвоя и древесина сосны обыкновенной. Были изучены две группы деревьев с различной длиной целлюлозного волокна: длинное ($>3,7$ мм), короткое ($<3,0$ мм), отобранные на основе результатов микроскопии образцов древесины. Выделение ДНК осуществлялось с использованием СТАВ-метода. ПЦР анализ проводился по четырем маркерным ДНК-локусам, ассоциированным с длиной целлюлозного волокна: альфа тубулин (TUBA), рецепторподобная киназа (RLK), ксилоглюкан 6-ксилозилтрансфераза (ХХТ), полигалактуроназа (GHF28). Размер амплифицированных зон составил ≈ 625 , 261, 795 и 932 пар нуклеотидов соответственно, что совпадало с расчетными значениями, полученными при моделировании их первичной структуры.

По локусам RLK и GHF28 выявлен уровень полиморфизма, сходный для двух исследованных групп деревьев сосны обыкновенной. По локусам TUBA и ХХТ выявлены алломорфы, соотношение которых различалось у групп деревьев с длинным и коротким волокном.

Электрофоретический анализ ампликонов альфа тубулина (TUBA) показал наличие трех алломорфов. В результате секвенирования выявлено, что различия между алломорфами представлены делециями (45-183 н.о., 15-61 аминокислота), а также однонуклеотидным полиморфизмом в виде транзиций и трансверсий (до 11 SNP/100 н.о.). В образцах ДНК, полученных с растительного материала с коротким целлюлозным волокном, во всех случаях отмечалось наличие алломорф 1 и 2, различающихся делецией 45 н.о. (15 аминокислот), а также единичными SNP. В образцах с длинным целлюлозным волокном в 50% случаев отмечалось наличие исключительно алломорфы 1, в 37,5% случаев — алломорф 1–2 и 12,5% — алломорфы 3. Алломорфа 3 характеризуется делецией в 183 н.о. (61 аминокислота), 10 транзициями (замены А/Г и С/Т) и 1 трансверсией Т/Г по сравнению с алломорфой 1.

Секвенирование фрагмента гена ксилоглюкан 6-ксилозилтрансферазы (ХХТ) показало наличие двух алломорф, различающихся вставкой/делецией 6 н.о. и множественными SNP (транзиции С/Т, А/Г и трансверсии С/А, Т/А). В исследуемых образцах с длинным целлюлозным волокном в 50% случаев отмечалось наличие алломорфы 1 и в 50% — алломорф 1 и 2. В образцах с коротким целлюлозным волокном во всех случаях отмечалось наличие алломорф 1 и 2.

Таким образом, для диагностики и отбора деревьев сосны обыкновенной по признаку длины целлюлозного волокна перспективными ДНК-маркерами являются альфа тубулин (TUBA) и ксилоглюкан 6-ксилозилтрансфераза (ХХТ).

О. П. Кибальник

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЦМС-ЛИНИЙ СОРГО НА ОСНОВЕ РАЗНЫХ ТИПОВ СТЕРИЛЬНОСТИ В СЕЛЕКЦИИ ЗАСУХОУСТОЙЧИВЫХ ГИБРИДОВ

*ФГБНУ Российский научно-исследовательский и проектно-технологический институт сорго и кукурузы
Россия, 418050, г. Саратов, 1-й Институтский пр-д, 4
e-mail: kibalnik79@yandex.ru*

В настоящее время частое возникновение абиотических стрессоров (повышение среднесуточных температур воздуха, отсутствие осадков, увеличение количества суховеев и т. д.) в период вегетации основных сельскохозяйственных культур вызывает необходимость использования растений с высоким адаптационным потенциалом — сорго. В селекции на повышение засухоустойчивости гибридов первого поколения необходимым этапом является диагностика и подбор исходного материала, обладающего комплексом адаптивных свойств, в качестве которого могут выступать сорта, коллекционные сортообразцы, селекционные линии (отцовские формы) и ЦМС-линии (материнские формы). Для оценки относительной засухоустойчивости компонентов скрещиваний селекционеры используют различные лабораторные и вегетационные методы в зависимости от фазы развития растений. В литературе отмечено, что этот комплексный признак связан с рядом физиологических особенностей. К более засухоустойчивым относят генотипы, способные переносить временное обезвоживание с наименьшим снижением урожайности (Баталова, 2013). Также многими исследователями установлено, что устойчивость к засухе обусловлена высоким относительным содержанием воды в листьях и низкой ее потерей (Гунес и др., 2008). В этой связи выявление устойчивости генотипов сорго по комплексу показателей водного режима листьев является актуальным. Целью исследований являлась кластеризация коллекции ЦМС-линий сорго, полученных на основе разных типов стерильности, по показателям водного режима листьев. Объектами исследований являлись 20 стерильных линий зернового сорго с разными типами ЦМС (A1, A2, A3, A4, A5, A6, 9E, M35-1A), которые ежегодно высевали на опытном поле института во 2–3 декадах мая в течение 2019–2021 гг. по общепринятой методике (1989). Оценка показателей водного режима листьев проводили согласно Диагностике устойчивости растений к стрессовым воздействиям (Удовенко, 1988) в двух повторениях в фазу «цветения». Гидротермические условия представленного периода исследований существенно различались: в межфазный период «всходы-цветение» ГТК составил 0,50–0,74, что свидетельствует о засушливых условиях вегетации растений. Проведение кластеризации коллекции ЦМС-линий по показателям общая оводненность тканей листьев, водный дефицит, водоудерживающая способность, потеря влаги через 1 ч, 1,5 ч и 24 ч увядания, средняя потеря влаги за 1 ч в сутки позволила сгруппировать их в 4 кластера. В результате изучения относительной засухоустойчивости рабочей коллекции стерильных линий с разными ЦМС-индуцирующими цитоплазмами выделены перспективные компоненты для включения в селекционную программу скрещиваний с целью создания высокоадаптивных к условиям Нижневолжского региона гибридов F1. По совокупности физиологических признаков высокая степень устойчивости к засухе оказалась у ЦМС-линии A2 KBV 114 (третий кластер): оводненность тканей листьев в среднем за три года испытаний оказалась на уровне 72,7%, водоудерживающая способность — 84,3%, водный дефицит — 6,5%, потери влаги через 1 ч увядания — 9,9% и 15,8% через 1,5 ч. Также к засухоустойчивым следует отнести стерильные линии второго кластера (A2 Тамара, A2 KBV 181, A2 Восторг, A2 Кремовое, A3 Фетерита 14, A4 КП 70, M35 Пищевое 614, A1 Карлик 4в, A2 Карлик 4в, A3 Карлик 4в, A5 Карлик 4в, A6 Карлик 4в), которые целесообразно использовать в качестве родительских форм. ЦМС-линии данного кластера только по показателю водного дефицита являются средnezасухоустойчивыми. Стерильные линии первого (A2 Судзern светлый, 9E Желтозерное 10, A3 Желтозерное 10, A4 Желтозерное 10, A1 О-Янг 1, 9E Пищевое 614) и четвертого кластеров (A1 Ефремовское 2) по большинству признаков следует отнести к средnezасухоустойчивым.

А. В. Кильчевский, В. А. Лемеш, А. А. Булойчик

СОЗДАНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ОБРАЗЦОВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР ДЛЯ ФОРМИРОВАНИЯ НОВОГО ГЕНОФОНДА ДОНОРОВ ХОЗЯЙСТВЕННО ЦЕННЫХ ПРИЗНАКОВ В ЦЕЛЯХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В СЕЛЕКЦИИ

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: a.buloichik@igc.by*

Быстрый прогресс в селекции растений и выход ее на ведущую роль в повышении продуктивности сельского хозяйства возможен только при мобилизации, концентрации и оперативном использовании в практических целях генетических ресурсов важнейших сельскохозяйственных культур.

В Институте генетики и цитологии НАН Беларуси собраны и поддерживаются коллекции зерновых и овощных культур, льна, подсолнечника, картофеля и др. В 2021–2022 гг. работа была направлена на создание и всестороннее исследование вновь созданных генотипов тетраплоидной ржи, перца сладкого, баклажана, картофеля и подсолнечника, а также на изучение белорусских стародавних образцов льна народной селекции (ландрас). Генетический фонд коллекционных образцов Института генетики и цитологии НАН Беларуси представлен 3 027 образцами: образцы биологического материала и ДНК — 2 655, из них образцы ДНК — 1 956 (пшеница — 459, рожь — 20, овес — 10, тритикале — 130, ячмень — 40, кукуруза — 51, люпин — 33, рапс — 352, картофель — 180, лен — 83, томат — 23, капуста белокочанная — 80, перец сладкий — 25, сахарная свекла — 240, соя — 73, земляника садовая — 147, смородина — 10). Всего передано в Национальный банк генетических ресурсов растений 264 образца (картофель — 143, тритикале — 47, подсолнечник — 33, лен — 41). В 2022 г. создана активная генетическая коллекция качественно новых образцов (озимая рожь — 18, картофель — 9, подсолнечник — 15, лен — 40, перец сладкий — 20, баклажан — 6). Всего 108 образцов.

Продолжен анализ активной генетической коллекции из 18 образцов тетраплоидной ржи с использованием высокоэффективного метода полиплоидизации закисью азота с последующей ржано-тритикальной гибридизацией. По результатам генетико-селекционного и молекулярно-генетического анализа коллекции белорусских ландрас льна создана активная коллекция из 40 образцов льна для дальнейшего изучения. На основании оценки полевой устойчивости картофеля к фитофторозу, параметров продуктивности картофеля, молекулярно-генетического анализа ПЦР-маркеров генов устойчивости четыре тетраплоидных (4EBN) межвидовых гибрида картофеля и пять линий включены в активную генетическую коллекцию. По результатам молекулярной и фенотипической оценки форм перца сладкого и баклажана создана активная коллекция из 20 образцов *Capsicum annuum* и 6 образцов *Solanum melongena*. По результатам испытания 58 гибридных комбинаций подсолнечника создана активная коллекция из 15 образцов подсолнечника.

Работа выполнена в рамках задания 8 «Генетически идентифицировать коллекционные образцы сельскохозяйственных культур для формирования нового генофонда доноров хозяйственно ценных признаков в целях использования в селекции» государственной программы «Научно-инновационная деятельность Национальной академии наук Беларуси» подпрограммы 3 «Изучение, идентификация и рациональное использование коллекций генетических ресурсов растений» на 2021–2025 годы.

А. В. Колубако¹, Е. В. Шруб¹, Р. С. Иванов², Г. Р. Кудоярова², Е. А. Николайчик¹

НЕКРОТРОФНЫЙ ПАТОГЕН *PESTOVACTERIUM VERSATILE* ВЫЗЫВАЕТ СНИЖЕНИЕ КОЛИЧЕСТВ АБСЦИЗОВОЙ КИСЛОТЫ В РАСТЕНИЯХ СЕМЕЙСТВА ПАСЛЕНОВЫЕ ПРИ ЗАРАЖЕНИИ

¹Белорусский государственный университет
Республика Беларусь, 220030, г. Минск, пр. Независимости, 4
e-mail: kolubakoav@yandex.by

²Уфимский институт биологии УФИЦ РАН
Республика Башкортостан, 450054, г. Уфа, ул. пр-т. Октября, 69

Абсцизовая кислота (АБК) в растениях, помимо регуляции развития, прорастания семян, процессов роста, движений устьиц, играет важную роль в реакции растений на стресс, что делает абсцизовую кислоту, пути ее биосинтеза и сигнализации весьма привлекательными объектами для исследований фитопатологов.

Для выяснения роли АБК и генов ее биосинтеза в иммунном ответе растений семейства Пасленовые на внедрение некротрофного патогена *P. versatile* измерили их экспрессию в листьях *Nicotiana benthamiana* и клубнях *Solanum tuberosum*. Растения инфильтровали суспензиями клеток штамма дикого типа (*P. versatile* JN42), мутанта по гену эффектора системы секреции третьего типа DspE (*P. versatile* VKE) или буферным раствором. Измерение с помощью кПЦР показало, что клетки патогена вызывают достоверное снижение экспрессии гена оксидазы абсцизового альдегида *AAO3* и увеличение экспрессии гена гидроксилазы АБК (*CYP707A1*) в тканях обоих растений, а снижение экспрессии гена 9-цис-эпоксикаротиноид диоксигеназы *NCED3* только в растениях картофеля. Несмотря на эту разницу, результаты могут свидетельствовать о том, что количество активной формы АБК в клетках снижается при внедрении патогена. Измерение количеств АБК в клубнях *S. tuberosum* показало снижение в 2 раза содержания гормона в тканях через 24 часа после заражения патогенами обоих штаммов.

Для изучения роли гена оксидазы абсцизового альдегида *AAO3* в модельном растении этого семейства, *N. benthamiana*, был индуцирован сайленсинг при помощи конструкции на основе вируса погрешности табака TRV. По истечении 42 дней наблюдались фенотипические отличия растений с сайленсингом: они были более слабыми, низкорослыми и с уменьшенной площадью листовой поверхности в сравнении с контрольными. Инфильтрация листьев интактных растений штаммами *P. versatile* JN42 *P. versatile* VKE показала индукцию реакции гиперчувствительности в листьях растений при инфильтрации штаммом дикого типа и снижение интенсивности этой реакции при заражении мутантным штаммом. Сайленсинг *AAO3* полностью нивелировал разницу в реакции растений на внедрение патогенов двух штаммов, что может свидетельствовать об участии АБК в распознавании основного эффектора пектобактерий.

Полученные результаты открывают новые перспективы для исследований механизмов устойчивости растений к бактериозам.

А. В. Константинов, М. Я. Острикова, Е. Н. Полевинова, Н. В. Осипенко

РАЗРАБОТКА ПРИЕМОВ ОМОЛОЖЕНИЯ КУЛЬТУР ТКАНЕЙ БЫСТРОРАСТУЩИХ ДРЕВЕСНЫХ ПОРОД ПРИ ДЕПОНИРОВАНИИ В КОЛЛЕКЦИИ *IN VITRO*

Институт леса НАН Беларуси
Республика Беларусь, 246050, г. Гомель, ул. Пролетарская, 71
e-mail: avkonstantinof@mail.ru

Эффективное использование потенциала биотехнологических коллекций *in vitro* для сохранения и воспроизводства хозяйственно ценных генотипов лесных древесных растений затрудняется в связи с накоплением вегетативно размножаемыми растениями возрастных изменений, зачастую приводящих к гибели клона или утрате хозяйственной ценности и пригодности к эффективному мультиплицированию.

В практике микроклонального размножения для замедления процессов старения растительных тканей распространено использование цитокининов и ауксинов, стимулирующих процессы деления клеток, предотвращающих распад хлорофилла и деградацию внутриклеточных структур изолированных эксплантов. Вместе с тем требуется подбор оптимальных концентраций фитогормонов, а также поиск приемов культивирования, минимизирующих вероятность возникновения соматической изменчивости и нарушения физиолого-биохимической стабильности материала.

Исследования проведены на осине обыкновенной (5 клонов), березе повислой (6 клонов) и березе пушистой (2 клон) из коллекции *in vitro* НАН Беларуси 3–20 лет. Условия культивирования: температура 23 ± 1 °C, освещение люминесцентными лампами Osram Daylight (интенсивность 2,0–3,0 клк). В ходе субкультивирования (пассажи продолжительностью по 12 недель) проводили черенкование с коэффициентом мультипликации около 3:1–5:1. Использовали среду с pH 5,6–5,8, на основе макросолей по прописи WPM, микросолей и витаминов по прописи MS, 7,0 г/л микробиологического агара, сахарозы 30,0 г/л, без фитогормонов, автоклавились 30 минут при 1,21 атм. (121 °C). Один раз в 2–3 пассажа культивировали на средах с регуляторами роста: аденин или 6-БАП в концентрации 10,0; 20,0; 30,0 мг/л и 0,1; 0,3; 0,5 мг/л соответственно, 0,1 мг/л 6-БАП или 20,0 мг/л аденина в сочетании с 0,01 мг/л ИМК или вносили 2,0 г/л активированного угля. Также оценивали интенсивность морфогенеза в зависимости от типа экспланта: апикальная часть микропобега или фрагмент с 1–2 аксиллярными почками.

Эксперименты показали, что внесение 6-БАП в концентрации выше 0,3 мг/л приводит к чрезмерному развитию каллусных тканей и возникновению микропобегов *de novo*, что нежелательно при поддержании коллекции *in vitro*. Использование сочетания 0,1 мг/л 6-БАП и 0,01 мг/л ИМК позволяло получать растения наиболее соответствующие требуемому морфотипу: регенеранты отличались чуть утолщенными побегами, достаточно мелкими листьями и хорошо развитыми междоузлиями, отмечали формирование небольших базальных каллусов, не препятствующих работе растительного материала, вместе с тем в данном варианте наблюдали укоренение не более 57% регенерантов березы, при этом укореняемость осины была максимальной. Применение аденина в концентрации 10–20 мг/л обеспечивало схожие параметры культур *in vitro*, дальнейшее повышение концентрации оказывало негативное влияние на растения, что проявлялось в утолщении побегов и витрификации значительной их части (до 14%).

Следует отметить положительное влияние активированного угля, внесение которого способствовало интенсивному укоренению микрорастений (до 100%) и превышению показателей средней высоты побегов до 1,7 раз у березы и коэффициента мультипликации до 6:1–7:1. Установлено, что наиболее компетентным типом экспланта для поддержания интенсивно пролиферирующей культуры тканей осины и березы в коллекции *in vitro* является апикальная часть микропобега.

П. И. Костылев

ИЗУЧЕНИЕ ОБРАЗЦОВ РИСА ПО ЭНЕРГИИ РОСТА И ТОЛЕРАНТНОСТИ К ДЛИТЕЛЬНОМУ ЗАТОПЛЕНИЮ

ФГБНУ «Аграрный научный центр «Донской»

Россия, 347740, Ростовская обл., г. Зерноград, Научный городок, 3

e-mail: p-kostylev@mail.ru

Рис является важной пищевой культурой населения планеты. В России рис возделывается на площади около 200 тыс. га, валовой сбор превышает 1 млн т. Среди многочисленных проблем рисоводства существенное место занимает борьба с сорными растениями, особенно с просянками. Для этого используются токсичные гербициды. Бороться с ними можно по безгербицидной технологии возделывания, основанной на длительном затоплении посевов, при котором рис выживает, а просянка погибает. Поэтому нужны сорта, устойчивые к этому стресс-фактору. Толерантность к затоплению обусловлена тремя группами генов (*Sub1A*, *AG* и *Sk*). Их перенос на генетическую основу российских сортов риса позволит создать устойчивые к затоплению аналоги.

Целью исследования является выявление с помощью ПЦР-анализа носителей данного признака среди линий, полученных от скрещивания доноров с отечественными сортами риса. Работа проводилась в Центре фундаментальных научных исследований и лаборатории селекции и семеноводства риса ФГБНУ «Аграрный научный центр «Донской». Пять сортов риса зарубежной селекции BR-11, CR-1009, Inbara-3, TDK-1, IR-64 стали донорами гена *Sub1A*, а три сорта Kharsu 80A, Mazhan Red, Khao Hlan On донорами генов *AG* и *Sk*. Реципиентами послужили российские сорта Новатор, Контакт и Кубояр. Для полимеразной цепной реакции (ПЦР) использовали микросателлитные SSR-маркеры. Был проведен поиск информации и сделан выбор информативных молекулярных маркеров в базе данных www.ncbi.nih.gov, которые позволили идентифицировать гены *Sub1A*, *AG* и *Sk* в полученных ранее гибридных линиях риса.

Проведенный ДНК-анализ материала позволил идентифицировать образцы с геном *Sub1A*. По результатам эксперимента они показали повышенную выживаемость в условиях длительного двухнедельного затопления по сравнению с растениями российских сортов. Они находились в состоянии покоя под водой, а затем быстрее восстанавливали свои жизненные функции после затопления, производя больше новых листьев, а в дальнейшем — нормальные метелки. Было отмечено, что на опытных участках сорняки погибли под водой.

Другая стратегия выживания риса заключается в интенсивном росте и удлинении листьев, которые преодолевают толстый слой воды в анаэробных условиях и, достигнув поверхности, начинают поставлять кислород в аэренхиму корней. Это свойство обусловлено генами *AG* и *Sk*. ПЦР-анализ линий из гибридных комбинаций Kharsu 80A × Контакт, Кубояр × Kharsu 80A, Кубояр × Mazhan Red, Khao Hlan On × Кубояр позволил выделить образцы, несущие эти гены. Лабораторный опыт по проращиванию семян риса в стеклянных цилиндрах подтвердил их высокую энергию роста из под слоя воды. На 13-й день после прорастания семян растения удлинлись до 47 см, тогда как контрольные не превышали 20 см и остались под водой.

Таким образом, оценка образцов риса с генами *Sub1A*, *AG* и *Sk* показала, что они эффективны для обеспечения толерантности к длительному затоплению в течение 2 недель, и его следует рекомендовать для селекционных программ по созданию современных сортов риса, устойчивых к длительному и глубокому затоплению как фактор борьбы с сорняками.

Материалы подготовлены в рамках конкурса Российского научного фонда 2021 года «Проведение фундаментальных научных исследований и поисковых научных исследований малыми отдельными научными группами» (соглашение № 22-26-00246 от 21.12.2022 г).

А. М. Кривецкая, В. С. Остапчик, А. Н. Островская, Н. И. Дробот, Г. В. Мозгова

ДЕТЕКЦИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИ-МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЛИНИЙ РАПСА

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: ldgmo@igc.by*

Семена рапса содержат до 40–48% масла, а жмых и шрот, получаемые при отжиге масла из семян, — до 30% белка, что делает их ценной основой для приготовления комбикормов. Благодаря невысокой стоимости возделывания семян рапсовый жмых и шрот становится, наряду с подсолнечным, тем привлекательным сырьем, которым стремятся заменить соевый шрот и жмых. В этой связи площади возделывания различных сортов рапса пищевого и кормового назначения растут. Растет и число одобренных для выращивания в отдельных странах мира (США, Канада, Новая Зеландия, Япония, Австралия и др.) сортов рапса, разработанных методами генной инженерии.

Число ГМ-сортов и гибридов рапса на мировом рынке, по данным Международной службы по сбору агrobiотехнологических заявок, достигло 41. Среди них отдельные линии, устойчивые к гербицидам, с увеличенным содержанием насыщенных либо ненасыщенных жирных кислот, восстановители фертильности и даже ГМ-линия рапса NS-B50027-4 со встроенной генной сетью, позволяющей осуществлять цикл превращения олеиновой в докозагексаеновую кислоту (незаменимую полиненасыщенную жирную кислоту класса Омега-3). Увеличение количества ГМ-линий рапса на мировом рынке определяет актуальность скрининга их как в семенном материале, так и в продуктах питания и кормах, получаемых из них.

Национальным координационным центром биобезопасности Института генетики и цитологии НАН Беларуси (НКЦБ) за 10 месяцев 2022 г. был проведен скрининг 59 образцов рапса на наличие промоторов 35S, FMV, SsuAra, терминаторов tNOS, te9, nptII, регуляторных последовательностей генов rat и ср4 EPSPS по разработанным в НКЦБ протоколам детекции. Процент ГМ-позитивных образцов составил 10,17%. Все ГМ-положительные образцы содержали промоторы 35S и FMV, у 5,01% исследованных образцов были обнаружены терминатор tE9 и регуляторная последовательность гена ср4 EPSPS. По результатам скрининга предполагается, что исследованные образцы могут содержать следующие ГМ-линии рапса: MON88302, GT200, GT73, RT73 и гибриды линий MON88302 x MS8, MON88302 x MS8 x RF3, MS8 x RF3 x RT73.

В течение 5-ти летнего периода (2017–2021 гг.) в предоставленных в НКЦБ образцах рапса генно-модифицированные скрининговые элементы не выявлялись. В Республике Беларусь одобренных для использования в хозяйственных целях ГМ-линий рапса нет согласно Приложению 2 «Ветеринарно-санитарных правил обеспечения безопасности в ветеринарно-санитарном отношении кормов и кормовых добавок». В этой связи все образцы, в которых были выявлены ГМ-последовательности, запрещены к обороту в стране. В связи с тем, что в Республике Беларусь разработано свыше 30 сортов рапса традиционной селекции пищевого назначения, такое увеличение числа детектируемых ГМ-событий для данной сельскохозяйственной культуры показывает необходимость усиления контроля за оборотом ГМ-рапса и целесообразность расширения списка объектов, на которые распространяется приложение к постановлению № 12/26 «Об утверждении перечня продовольственного сырья и пищевых продуктов, подлежащих контролю за наличием генетически модифицированных составляющих (компонентов)», семенами рапса и сырьем, получаемым из них. Актуальной также является разработка схем скрининга для выявления отдельных ГМ-линий рапса.

П. В. Кузмицкая, Е. С. Королева

АНАЛИЗ ПРОМОТОРНЫХ ОБЛАСТЕЙ ГЕНОВ ЯБЛОНИ, КОДИРУЮЩИХ КАЛЬМОДУЛИН-СВЯЗЫВАЮЩИЕ АКТИВАТОРЫ ТРАНСКРИПЦИИ

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Скорины, 34
e-mail: P.Kuzmitskaya@igc.by*

Семейство кальмодулин-связывающих активаторов транскрипции (САМТА) впервые было обнаружено у табака во время скрининга СаМ-связывающих белков, которые известны как быстрые элементы реакции на стресс. САМТА способны специфически распознавать и связываться с цис-элементами (A/C/G)CGCG(T/C/G) или (A/C)CGTGT промоторных регионов генов, в результате регулируя их экспрессию. Гены САМТА были обнаружены у многих видов растений с помощью *in silico* геномной идентификации. Мы идентифицировали 8 генов САМТА в геноме яблони. В данной работе представлен *in silico* анализ их промоторных цис-элементов. Для этого был проведен анализ последовательности ДНК длиной 2 000 п. н. выше первого кодона с помощью базы данных PlantCARE.

О важности гормональной регуляции в экспрессии MdCAMTA может свидетельствовать тот факт, что мы не обнаружили ни одного гена, не имеющего характерных сайтов для одного из растительных гормонов. Регуляторные области каждого из MdCAMTA содержат как минимум один из элементов, указывающий на участие салициловой кислоты в их экспрессии. 87,5% из них могут регулироваться метилжасмонатом и его производными, столько же — абсцизовой кислотой. 75% генов MdCAMTA могут регулироваться ауксином, 62,5% — этиленом, 25% — гибберелином. Ключевым фактором, влияющим на экспрессию MdCAMTA, является свет. Элементы, участвующие в светозависимых сигнальных путях, были обнаружены в промоторных областях всех без исключения членов семейства. MdCAMTA могут участвовать в формировании стрессового ответа. Об этом могут свидетельствовать элементы STRE, которые были обнаружены в 87,5% промоторных областей. Столько же промоторных областей содержат элементы ARE, принимающие участие в ответе на анаэробный стресс. TC-reach repeats, принимающие участие в защите и формировании реакции на стресс, были обнаружены в 50% случаев. Промоторные области 25% генов содержат элемент DRE, который может регулировать их экспрессию при засухе, одного — LTR, который участвует в ответе на воздействие низкой температуры. Один из генов содержит элемент AP-1. По всей видимости, одной из функций MdCAMTA является участие в ответе на раневой стресс и атаку патогенов. Об этом можно судить по наличию мотивов WUN, WRE3, Box S, которые были найдены в промоторных областях у 12,5%, 62,5%, 12,5 генов MdCAMTA соответственно. В общей сложности 75% генов MdCAMTA содержат минимум один из этих элементов. Экспрессия MdCAMTA может быть тканеспецифичной, на что указывают AAGAA-motif, RY-element, GCN4_motif, TCCACGTAGA, O2-site, CAT, A-box, HD-Zip 1, AP2-like bindingsite, обнаруженные среди регуляторных элементов. Элементы MSA, E2Fb, MSA-like указывают на то, что MdCAMTA могут принимать участие в регуляции клеточного цикла.

Таким образом, анализ нуклеотидной структуры регионов, расположенных непосредственно перед генами MdCAMTA, позволяет считать, что они вовлечены в сложную систему взаимодействия регуляторных процессов, необходимых для жизни растения. Мы можем предполагать, что экспрессия MdCAMTA может зависеть от условий, в которых находятся растения, например, может изменяться при воздействии стресса, варьировании уровня освещения. Она также может быть тканеспецифичной.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта БРФФИ Б21-151.

П. В. Кузмицкая, Е. С. Королева

**ОЦЕНКА ПРОФИЛЕЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ЯБЛОНИ, КОДИРУЮЩИХ
ТРАНСКРИПЦИОННЫЕ ФАКТОРЫ СЕМЕЙСТВА *TRIHELIX***

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Скорины, 34
e-mail: P.Kuzmitskaya@igc.by

На рост, развитие и продуктивность растений могут влиять различные неблагоприятные факторы окружающей среды, такие как засуха, повышенная и пониженная температуры, засоление почвы. Для адаптации к стрессовым условиям у растений происходит изменение экспрессии генов, связанных со стрессом. Одной из групп транскрипционных факторов, принимающих участие в этом процессе у многих видов растений, являются транскрипционные факторы семейства Trihelix, вклад которых в формирование стрессового ответа у яблони ранее изучен не был. В представленной работе мы проверяли ответ 14 из 37 идентифицированных нами с помощью НММ-основанного поиска генов из семейства Trihelix яблони (*MdTH*) на влияние отдельных неблагоприятных абиотических факторов, поскольку известно, что их представители принимают участие в процессах адаптации у других растений.

Для изучения влияния засухи на экспрессию генов *MdTH* мы проводили извлечение растений из земляного кома с последующим их помещением на фильтровальную бумагу. Оценка экспрессии 14 генов *MdTH* показала, что у 10 из них относительный уровень экспрессии возрос, причем наиболее сильно у *MdTH4* на 24 часу воздействия. Уровень экспрессии трех генов (*MdTH21*, *MdTH23*, *MdTH30*) наоборот, снижался при воздействии засухи.

Для изучения влияния повышенной температуры растения помещали в климатическую камеру с температурой 40 °С. Оценка уровней экспрессии генов *MdTH* подвоев ММ-106 показала, что у большинства исследованных генов экспрессия изменяется незначительно, у некоторых (например *MdTH4*, *MdTH11*, *MdTH22* и др.) снижается, у трех генов значительно возрастает, например, *MdTH8* на 24-м часу воздействия, *MdTH20* и *MdTH36* — на 4-м часу, причем у последнего это наиболее сильные изменения в ответ на воздействие повышенной температуры.

Снижение температуры до 4 °С вызвало значительное снижение экспрессии *MdTh4* на 2-м и более поздних часах воздействия. Наибольшее повышение уровня экспрессии наблюдалось у гена *MdTH30* на 4-м часу. У большинства генов (*MdTh8*, *MdTh9*, *MdTh20*, *MdTh21*, *MdTh31*, *MdTh35*, *MdTh36*) происходило повышение уровня экспрессии на 2 и/или 4 часах воздействия. Спустя сутки относительный уровень их экспрессии, как правило, оказывался ниже начальной точки отбора проб (но не всегда, например, у гена *MdTh35* относительный уровень экспрессии на 24 часу воздействия был выше, чем в нулевой точке отбора проб).

Среди всех изученных стрессовых факторов воздействие раствора NaCl вызывало наиболее однородную реакцию исследуемых генов: мы наблюдали повышение уровня экспрессии большинства из них (*MdTh4*, *MdTh8*, *MdTh9*, *MdTh11*, *MdTh20*, *MdTh21*, *MdTh22*, *MdTh24*, *MdTh30*, *MdTh31*, *MdTh36*) на втором часу воздействия. При этом сила ответа разных генов отличалась. Наибольшее повышение уровня экспрессии наблюдалось у генов *MdTh4* и *MdTh24*. В более поздних точках отбора уровни экспрессии генов *MdTh* снижались.

Повышение относительного уровня экспрессии генов *MdTH4*, *MdTh24*, *MdTH30*, *MdTH8*, *MdTH20* и *MdTH36* при воздействии стрессовых условий может указывать на их участие в формировании ответа на соответствующие виды абиотического стресса.

С. А. Кулиш, Л. И. Сапунова

СОВМЕСТНОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ДРОЖЖЕВЫХ ГРИБОВ КАК ОСНОВА ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЙ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ КОМПЛЕКСНОГО ДЕЙСТВИЯ

Институт микробиологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220084, г. Минск, ул. акад. В. Ф. Купревича, 2
e-mail: kulish76@mail.ru

Прогнозируемый рост численности населения Земли до 7,861 млрд к 2025 году и до 8,987 млрд к 2050 году предполагает существенное увеличение объемов производства продуктов питания как растительного, так и животного происхождения. При ограниченности и даже нехватке сельскохозяйственных угодий и мест для содержания животных решением проблемы, связанной с обеспечением людей животным белком, является повышение качества кормов и кормовых добавок. К числу последних принадлежат кормовые продукты на основе активных дрожжевых грибов. Их рынок пока не превышает \$200 млн, однако стабильно растет на 5–10% ежегодно. Это обусловлено многогранным позитивным влиянием микроорганизмов и биологически активных продуктов их жизнедеятельности на организм животных. Доказано, что использование живых дрожжей в рационе повышает иммунитет, снижает риск развития ацидозов, инфекционных заболеваний, улучшает физическое и репродуктивное здоровье животных, их продуктивность при уменьшении потребления кормов. Это, в свою очередь, способствует снижению экологической нагрузки в регионах интенсивного животноводства, увеличению объемов производства продуктов питания и повышению их качества.

В Республике Беларусь в ограниченном объеме путем смешивания импортных биологически активных субстанций производят кормовые добавки, содержащие активные дрожжевые грибы различных штаммов *Saccharomyces cerevisiae* (Селеток, ООО «Научно-производственная фирма ВИК», РФ; Ацидобактерин, ОАО «Дрожжевой комбинат», РБ; Экоселл и Левибио, ИПУП «ВИК-здоровье животных», РБ). На рынок страны через посредников поставляют также аналогичную продукцию зарубежного производства, например, LEVUCCELL® SC (Канада), Biosprint® G (Италия) и т. п. Это ведет к завышению цены на кормовые продукты указанной категории (особенно востребованные при снижении поставок в ответ на введенные санкции), трате валютных средств на их закупку и поддержку зарубежных производителей.

В нашей стране первым полученным микробиологическим способом кормовым продуктом, содержащим консорциум дрожжевых грибов, является разработанная в Институте микробиологии НАН Беларуси бикомпонентная добавка Полиэкт. Основу технологии ее получения составляет совместное культивирование специально подобранных и селективированных штаммов дрожжевых грибов *Cryptococcus flavescentis* 1-АЛ-3 и *Rhodotorula* sp. ФПСК-17 — продуцентов олиго- и полисахаридов, ферментов, каротиноидов, пептидов. Ее применение оказывает пребиотическое, сорбционное, иммуномодулирующее, гепатопротекторное действие и обеспечивает повышение среднесуточного прироста живой массы телят и цыплят-бройлеров на 6,5–12,1% при снижении расхода кормов на единицу продукции на 4–8%. При этом нормализуется состав микробиоты желудочно-кишечного тракта (увеличивается количество бифидо- и лактобактерий, представителей рода *Bacillus*, снижается на порядок бактерий *Escherichia coli* и *Clostridium* sp.), повышается относительная биологическая ценность мяса животных на 0,8–2,0%, снижается содержание в нем жира на 12,7%, увеличивается концентрация минеральных веществ на 19,6%. Освоение производства кормовой добавки Полиэкт будет способствовать повышению выхода, качества и рентабельности производства продуктов животноводства и, тем самым, продовольственной безопасности страны.

К. Ч. Курбанов, С. Ш. Абдирахимова, Г. И. Аманова, Р. С. Мухамедов, Е. В. Никитина

***NITRARIA SCHOBERI* И *LYCIUM RUTHENICUM*, КАК ИСТОЧНИК ГЕНОВ СОЛЕУСТОЙЧИВОСТИ**

Институт биоорганической химии, Академия Наук Республики Узбекистан
Республика Узбекистан, 100125, г. Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 83
e-mail: qurbonovkatol808@gmail.com

Засоление почв является мировой проблемой с точки зрения ресурсов и экологии. В настоящее время примерно 20% орошаемых почв в мире подвержены засолению. Предполагается, что к 2050 году показания достигнут 50%. Снижение уровня воды в Аральском море стало причиной увеличения засоленности, вызвало ряд последствий, таких как деградация земель, опустынивание, что негативно повлияло на биоразнообразие в прибрежном регионе. Территория обнажившегося морского дна сформировала самую молодую пустыню Аралкум. В настоящее время площадь обсохшего морского дна составляет более 6 млн га (2021 г.), относящаяся к песчано-солончаковому типу аридных пустынь. Засоление территории — одна из экологических проблем, исследуемая не только отечественными учеными, но и во всем мире. Выбранные нами объекты исследования, относятся к группе «соленакпливающих» растений — эугалофиты, используются в качестве источника генов, которые придают солеустойчивость чувствительным растениям, являются важным генетическим ресурсом в качестве исходного материала для селекции экологически дифференцированных солеустойчивых видов для использования с целью экологической реставрации и фитомелиорации деградированных земель в аридных районах страны. *Nitraria schoberi* L. (Селитрянка Шобера) псаммофитный кустарник — галоксеромезофильный кустарник, до 1–1,5 м высотой; *Lycium ruthenicum* (Дереза русская, ягоды Годжи) — псаммофильный кустарник, галомезоксерофильный кустарник, до 1–1,5 м высотой. Растения являются доминантами галофильной растительности Южного Аралкума. Исследования последних десятилетий, сосредоточенные на попытках понять молекулярные механизмы, контролирующие развитие организма, позволяющие организмам выживать в разных экологических нишах и экстремальных условиях по всей планете, показали, что регуляция транскрипции во время развития является преобладающим механизмом генерации новых фенотипов. В связи с этим целью данной работы является создание конкурентоспособных солеустойчивых растений, адаптированных к условиям Южного Аралкума, методом выявления экспрессии «генов-кандидатов», обеспечивающих устойчивость изучаемых объектов. Для исполнения цели поставлены задачи: выделение тотальной РНК и получение при помощи неспецифической обратной транскрипции кДНК, используемой в дальнейшем для анализа экспрессии необходимых генов (*DREB*, *NAC*, *WRKY*, Na^+/H^+ -антипортер, *BADH*) с помощью ПЦР. Выделение тотальной РНК проводили с использованием набора *PureLink RNA Mini Kit* (Thermo Scientific, USA) с модификациями. Навеска исследуемого материала была уменьшена до 50 мг. Гомогенизацию проводили в присутствии азота. Лизирование — в 500 мкл лизирующего буфера с 5 мкл 2% β -меркаптоэтанола. Элюирование полученной РНК производили в 50 мкл RNase-Free воде. Оценку концентрации и чистоты полученных образцов нуклеиновых кислот выполняли с помощью спектрофотометра *NanoPhotometer N60* (Implen, Германия). Препараты РНК имели соотношение экстинкции при $\lambda = 260$ нм/280 нм равное в среднем значению 2,0. При этом показатели концентрации РНК имели значение 160–200 нг/мкл. Электрофорез в 1% агарозном геле показал наличие двух четких полос рРНК, одинаковой интенсивности окраски, и отсутствие низкомолекулярной РНК. Пробы РНК использовали для постановки обратной транскрипции (ОТ).

Е. В. Лагуновская, А. А. Булойчик, В. И. Сакович, В. Н. Буштевич, С. И. Гриб

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АЛЛЕЛЬНОГО СОСТАВА ГЕНОВ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ КАЧЕСТВО ЗЕРНА У ПШЕНИЦЫ И ТРИТИКАЛЕ, С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕХНОЛОГИИ KASP

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: e.antonenko@igc.by

Одна из важнейших целей селекции пшеницы и тритикале — улучшение качественных характеристик зерна, пригодного для приготовления хлебобулочных, макаронных и кондитерских изделий. Каротиноиды (лютеин, зеаксантин, криптоксантин) определяют цвет муки. Их содержание варьирует у разных сортов. В синтезе каротиноидов участвуют ферменты, включая фитоенсинтазу, ζ -каротин-десатуразу, фитоен-десатуразу и др. Пероксидазы, широко распространенные в злаках, вызывают деградацию пигментов, особенно β -каротина, и окисление лютеина. Активность всех этих ферментов тесно связана с цветом муки и производимых из нее продуктов, а также с изменением исходного цвета в процессе хранения.

Установлено, что определенные однонуклеотидные замены SNP, инсерции и делеции в последовательностях генов, кодирующих ферменты, связанные с синтезом и деградацией каротиноидов, оказывают значительное влияние на содержание в зерновке веществ, влияющих на качество муки и конечного продукта. Применение высокоточной технологии KASP-генотипирования позволяет выделить среди имеющихся образцов те, которые несут благоприятные аллели генов, определяющих качество зерна.

Нами проведено KASP-генотипирование 48 генотипов мягкой пшеницы (4 сорта и 17 сортообразцов белорусской селекции, 9 сортов зарубежной селекции, 18 линий удвоенных гаплоидов), а также 54 генотипа тритикале (сорт Узор и 53 линии удвоенных гаплоидов) по 6 генам (*Gps-B1*, *Ppo-A1*, *Lox-B1*, *Psy-A1*, *TaPod-A1*, *Zds-A1*), ответственным за качественные характеристики зерна, с целью выявления генотипов с благоприятными аллелями генов (*Gpc-B1b*, *Ppo-A1*, *TaLox-B1a*, *Psy-A1a*, *TaPod-A1a*, *Zds-A1b*).

Проанализировано 102 генотипа. Сорта и сортообразцы пшеницы, а также сорт тритикале Узор, предоставлены НПЦ НАН Беларуси по земледелию, линии удвоенных гаплоидов созданы методом культуры пыльников *in vitro* в Институте генетики и цитологии НАН Беларуси.

Среди проанализированных образцов пшеницы по четыре благоприятных аллеля обнаружено у сорта Тоската и сортообразца КСИ 36, по три благоприятных аллеля — у сортов Любава, Вена, KWS Sunny, ВТБ «Трой», сортообразцов Э-2298, Э-2946, а также линий удвоенных гаплоидов ДН 8-5/10 и ДН 66-3-(О)-12. У 37 генотипов выявлено по два аллеля, кроме сортообразца Л.15-77, несущего лишь один благоприятный аллель *TaLox-B1a*.

В результате KASP-генотипирования образцов тритикале выделено 12 линий удвоенных гаплоидов, несущих комплекс из трех благоприятных аллелей. Остальные 42 генотипа несли по два благоприятных аллеля.

Таким образом, в результате KASP-генотипирования выделены образцы несущие комплекс благоприятных аллелей генов, контролирующих качество зерна у пшеницы и тритикале. Наибольшее число благоприятных аллелей — четыре — выявлено у 2 образцов пшеницы, по три аллеля — у 8 образцов пшеницы и 12 образцов тритикале.

В. А. Лемеш, В. Н. Кипень, Г. В. Мозгова, А. А. Буракова, Л. В. Хотылёва

ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ В ОТВЕТ НА ХОЛОДОВОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ У СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР СЕМЕЙСТВА *BRASSICACEAE*

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: v.kipen@igc.by

Известно, что устойчивость к пониженным температурам является количественным признаком. В связи с этим, одним из научно-обоснованных подходов для создания новых устойчивых сортов сельскохозяйственных культур семейства *Brassicaceae* состоит в том, чтобы оценить изменение экспрессии локусов, ассоциированных с устойчивостью к пониженным температурам. Некоторые из них относятся к классу транскрипционных факторов (TF, transcription factor), изменение их экспрессии приводит к увеличению или уменьшению синтеза мРНК и других видов РНК на матрице ДНК и связано с направлением дифференцировки и развития клеток.

Цель работы — оценить изменение экспрессии транскрипционных факторов BnaA03g19970D, BnaA03g40080D, BnaA07g24230D и BnaA09g37540D [L. Ke et al., 2020] в ответ на контролируемое холодовое воздействие для сельскохозяйственных культур семейства *Brassicaceae*, выращиваемых в Беларуси (сорта рапса *B. napus* L. Зорны, Зенит, Ветразь, Август, Мартын, Днепр и Федор; сорта капусты полевой *Brassica rapa* ssp. *oleifera* (DC.) Морана, Бемуар и Завея).

Эксперимент проводили в контролируемых условиях с использованием лабораторного инкубатора CLIMACELL 222 — EVO line (MMM Medcenter Einrichtungen GmbH, Германия) в течение 5 суток: параметры этапа «день» — время 10.00–17.00, температура — 6 °C, влажность — $55 \pm 5\%$, освещение — да; параметры этапа «ночь» — время 17.01–9.59, температура — 0 °C, влажность — $55 \pm 5\%$, освещение — нет. Для выделения тотальной РНК использовали набор Total RNA Purification Kit (PP-210, Jena Bioscience, Германия). Концентрацию тотальной РНК и степень ее очистки определяли с использованием спектрофотометра Implen Nano Photometer N50 (Implen, Германия). Синтез кДНК на матрице мРНК осуществляли с использованием набора SCRIPT cDNA Synthesis Kit (PCR-511S, Jena Bioscience, Германия). Для синтеза кДНК использовали праймеры oligo-dT_{15–25}, входящие в набор. ПЦР проводили на амплификаторе QuantStudio 5 (Applied Biosystems, США) со следующими температурно-временными условиями: 5 мин — 95 °C, 40 циклов: 15 сек — 95 °C, 60 сек — 60 °C. Для ПЦР использовали мастер-микс qPCRmix-HS LowROX (PK154L, Евроген, Россия), в качестве интеркалилирующего красителя применили EvaGreen (PCR-379, Jena Bioscience, Германия). Итоговая концентрация праймеров в смеси — 0,2 пмоль/мкл. Изменение экспрессии рассчитывали по формуле $\Delta\Delta Ct$ (в качестве референсного локуса использовали *Actin*).

Для транскрипционного фактора BnaA03g19970D диапазон изменения уровня экспрессии в ответ на холодовое воздействие составил 0,27–1,53 раза, для BnaA03g40080D — 0,54–23,38 раза, для BnaA07g24230D — 0,18–81,38 раза, для BnaA09g37540D — 0,07–91,19 раза. В совокупности по четырем локусам наиболее выраженное увеличение экспрессии отмечено для сортов рапса Зорны и Зенит, а также для сорта капусты полевой Завея.

Полученные результаты будут использованы в дальнейшем сравнительном анализе с аналогичными данными для сортов сельскохозяйственных культур семейства *Brassicaceae* с широким ареалом (Россия, Германия, Финляндия, Япония и др.).

В. А. Лемеш, М. С. Парфенчик, В. И. Сакович

УСТАНОВЛЕНИЕ НАСЛЕДОВАНИЯ ИНСЕРЦИИ *LIS-1* У СТАРОДАВНИХ ОБРАЗЦОВ ЛЬНА-ДОЛГУНЦА (*LINUM USITATISSIMUM* L.) ПЦР-МЕТОДОМ

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: m.parfenchyk@igc.by

Лен является одной из важнейших культур, используемой в промышленности. Для улучшения качества льнопродукции необходимо выведение высокопродуктивных, устойчивых к полеганию и болезням сортов льна-долгунца. Изучение стародавних образцов (ландрас) культурного вида может выявить генотипы, перспективные в качестве доноров редких аллелей генов хозяйственно-значимых признаков.

Геном льна-долгунца (*L. usitatissimum*) характеризуется пластичностью и модификациями, возникающими под действием внешних факторов. Одним из изменений в геноме является наследуемая инсерция *LIS-1* (англ. *Linum Insertion Sequence*, сокр. — *LIS-1*) — это последовательность нуклеотидов размером 5,7kb, которая встраивается в единичной копии в определенный сайт генома льна. Вставка *LIS-1* собирается из коротких нуклеотидных последовательностей, разбросанных по всему геному на стадии бутонизации. Канадский сорт льна *Stormont Cirrus* послужил родительской формой для нескольких линий (генотрофов), которые стабильно воспроизводились в различных условиях внешней среды. Две наиболее контрастные линии были классифицированы как L и S (англ. *large* и *small* соответственно) генотрофы в зависимости от ряда фенологических и биохимических признаков. Последовательность *LIS-1* характеризуется как перспективный молекулярный маркер для выявления форм льна с высокой пластичностью генома и, соответственно, высокой адаптационной способностью.

Нами проведен молекулярно-генетический анализ с целью подтверждения наследования вставки *LIS-1* у 65 индивидуальных растений 7 стародавних белорусских образцов льна с наибольшей встречаемостью *LIS-1* (К-786 р.3-4; К-789 р.7-1, 9-1; К-1044 р.5-5, 8-2; К-6222 р.4-2, 4-4, 4-5; К-791 р.3-2; К-6215 р.5-4; К-6219 р.3-1, 3-2, 3-5). Данные растения рассматривались как потенциальные носители *LIS-1* в третьем поколении, т. к. были отобраны по результатам наших предыдущих исследований.

В результате было установлено, что у 5 индивидуальных растений ландрасы К-6219 (растения 3-1-1, 3-1-3, 3-2-1, 3-2-3–3-2-5) наблюдалась амплификация фрагментов при постановке ПЦР со всеми парами праймеров, использованными в исследовании, что может быть свидетельством гетерозиготности.

У растений ландрас К-6215 (5-4-5) и К-6222 (4-2-1, 4-4-5) наблюдалась амплификация только начального фрагмента с 2/3' конца, либо отдельный фрагмент с 18a/19' конца. Вероятно, *LIS-1* встраивается не одномоментно, соответственно вставка концов 2/3' и 18a/19' происходит не одновременно, а в процессе развития растения.

Таким образом, наследование вставки *LIS-1* было подтверждено для 42 индивидуальных растений. Для 5 растений ландрасы К-791 показано отсутствие *LIS-1* наследования в трех поколениях. Наибольшая встречаемость индивидуальных растений, несущих *LIS-1*, характерна для ландрас К-789, К-1044, К-6222 (100%); наименьшая — у ландрас К-6219 и К-6215, в которых наблюдалась потеря наследования *LIS-1* частью растений (60,0% и 40,0% соответственно). Для ландрасы К-791 показана полная потеря *LIS-1*: инсерция не обнаружена ни у 1 из 5 растений.

Т. С. Маркевич

**ПОПУЛЯЦИОННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ
PICEA ABIES НА ТЕРРИТОРИИ БЕЛАРУСИ**

Институт леса НАН Беларуси
Республика Беларусь, 246050, г. Гомель, ул. Пролетарская, 71
e-mail: Tatjana2002_21@inbox.ru

Вавилов Н. И. писал о том, как важно для генетики нахождение удобных модельных объектов среди огромного видового разнообразия. Для моделирования генетических процессов и изучения количественных признаков древесные виды являются одними из самых сложных объектов. Это связано со значительной продолжительностью жизни одного поколения, перекрестным способом опыления, периодичностью семеношения, разной степенью экологической пластичности и индивидуальной активности. Однако, несмотря на отмеченные трудности, некоторые преимущества для изучения популяционных процессов в Беларуси, по сравнению с другими древесными видами, имеет ель европейская (*Picea abies* (L.) Karst.). Это прохождение по территории республики границы сплошного произрастания *P. abies* с выделением различных ареалогических зон (краевой, периферийной и центральной); наличие подвидов (*P. abies* subsp. *abies* и *P. abies* subsp. *acuminata*), отличающихся географическим происхождением и имеющих приуроченность к разным почвенно-гидрологическим условиям; формирование древостоев *P. abies* в разнообразных условиях среды (12 типов леса).

Сравнение изменчивости хозяйственно важных признаков подвидов *P. abies*, произрастающих совместно в одном из самых распространенных типов леса (*Piceetum myrtillosum*), показало, что в одних древостоях они имеют одинаковый уровень изменчивости, в то время как в других он может различаться. Установлена следующая амплитуда изменчивости: протяженность кроны варьирует у subsp. *abies* от 8 до 46%, у subsp. *acuminata* — от 9 до 36%, относительная протяженность кроны у subsp. *abies* изменяется от 4 до 31%, у subsp. *acuminata* — от 7 до 27%, изменение высоты прикрепления первых сухих сучьев у subsp. *abies* отмечено от 5 до 153%, у subsp. *acuminata* — от 19 до 108%, а по высоте прикрепления первых живых сучьев установлены значения у subsp. *abies* от 7 до 46%, у subsp. *acuminata* — от 8 до 47%. Как следует из приведенных данных, для subsp. *abies* характерен большой размах значений количественных признаков, что, возможно, имеет исторические корни: изначально больший генетический потенциал у данного подвида.

Следует отметить, что более широкая амплитуда признака сохраняется у subsp. *abies* и в пределах ареалогических зон. Например, в краевых популяциях размах значений коэффициента вариации протяженности кроны для subsp. *abies* — 8–32%, что отражает изменение признака от низкого до высокого уровня, а для subsp. *acuminata* — 10–21% (низкий – повышенный); в периферийной, соответственно, 8–46% (низкий – очень высокий) и 9–33% (низкий – высокий); в центральной — 24–35% (повышенный – высокий) и 25–36% (повышенный – высокий). Как видно, в краевых популяциях и находящихся на периферии ареала выявлены очень низкий и низкий уровни изменчивости признака, в то время как в центральной части ареала указанные уровни изменчивости не установлены. Снижение степени варьирования данного количественного признака от центральной части ареала *P. abies* к краевой, возможно, связано с гомозиготизацией генов вследствие близкородственного скрещивания в последней.

Таким образом, изучение особенностей популяционной структуры на основании количественных признаков показало дальнейшую возможность использования *P. abies* в качестве модельного объекта.

А. Ш. Махкамов, В. Д. Митюков, А. В. Усатов

РАЗРАБОТКА ДНК МАРКЕРОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФЕРТИЛЬНЫХ И СТЕРИЛЬНЫХ РАСТЕНИЙ ЛУКА РЕПЧАТОГО (*Allium cepa* L.)

Академия биологии и биотехнологии им. Д. И. Ивановского ЮФУ
Россия, 344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки 194/1
e-mail: makhkamovrasul@yandex.ru

Сегодня в мире активно внедряется и используется гибридная селекция. Интенсификация агропроизводства требует быстрого создания высококачественных сортов и гибридов сельскохозяйственных культур. Важную роль при этом играют технологии, которые не только ускоряют селекцию, но и повышают степень надежности оценки селекционного материала (Гаврилова, 2003). Среди овощных культур по занимаемым площадям возделывания лук находится на третьем месте в мире. Наша страна занимает лидирующее место в мире по импорту лука (Агровестник: [сайт]. URL: <https://agrovesti.net/lib/industries/vegetables/rynok-repchatogo-luka-v-2022-godu-tendentsii-i-prognozy.html>). Однако потребность в луке в до сих пор удовлетворяется далеко не полностью. Для этого, прежде всего, необходимы хорошо изученные две генетические системы: цитоплазматическая мужская стерильность (ЦМС) и гены восстановители фертильности пыльцы (Rf). Комбинированное использование этих систем позволяет сократить время селекции двулетней культуры лука репчатого с 6 до 3 лет. На данный момент практически отсутствуют данные о точности маркерных систем, определяющих типы ЦМС и аллельные варианты генов Rf, но при этом существует запрос на новые точные тест-системы от селекционеров в России и во всем мире, поэтому целью данной работы служила разработка наиболее эффективной тест-системы для определения типов ЦМС у лука. Материалом исследования послужили 18 отечественных селекционных линий, которые включали полусладкие, полуострые гибриды лука репчатого. Растения выращивали в фитотроне при 16-часовом световом дне и температуре 26 °С. Стерильные и фертильные линии использовали как контроли для проверки эффективности тест-систем. ДНК выделяли из молодых листьев с помощью коммерческого набора DNeasy Plant mini (Qiagen, США). Для ПЦР использовали набор ScreenMix HS, а для ПЦР в режиме реального времени — qPCRmixSYBR HS (Евроген, Россия). ПЦР продукты разделяли в 1,5% агарозном геле. Нами были проанализированы следующие маркеры: *cob*, *orfA501*, *orf725* и *IGS*. В результате наиболее эффективными оказались маркеры *cob* и *orfA501*, они показали точность в 97%. При использовании маркера *IGS* специфичных ПЦР продуктов не наблюдалось, а в случае маркера *orf725* эффективность составила 75%. В ходе исследования нами были проанализированы следующие маркеры InDel: *PMS1*, *SKP1*, *OPT*, *jnurf13*; Realtime: *HRM1*, *HRM5*, *HRM7*, *HRM8*. В результате было обнаружено, что маркеры *HRM1* и *HRM8* во всех образцах показывали генотип *MsMs*. Наиболее низкую эффективность показали маркеры *OPT* и *HRM8* — 64 и 60% соответственно. Интересно отметить, что маркер *SKP1*, состоящие из 4 праймеров, показали эффективность 80%, а если реакцию на каждую аллель проводить индивидуально, то эффективность повышалась до 95%. В результате наиболее эффективными оказались маркеры *PMS*, *HRM7*, *jnurf 13*, они показали точность более 95%. Так как маркер *jnurf13* требует очень трудоемкое разделение в полиакриламидном геле, что значительно увеличивает время на получение результата генотипирования, поэтому нами предлагается использование двух маркеров *PMS1* и *HRM7* для массового генотипирования растений лука репчатого.

Г. В. Мирская¹, Ю. В. Хомяков¹, Н. А. Рушина¹, В. Е. Вертебный¹, Е. П. Чижевская²,
В. Н. Пищик^{1,2}

ОТЗЫВЧИВОСТЬ СКОРОСПЕЛЫХ ГЕНОТИПОВ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM AESTIVUM* L.) НА ИНОКУЛЯЦИЮ *BACILLUS SP. 2026*

¹ФГБНУ «Агрофизический научно-исследовательский институт»

Россия, 195220, г. Санкт-Петербург, пр. Гражданский, 14

e-mail: galinanm@gmail.com

²ФГБНУ «ВНИИ Сельскохозяйственной микробиологии»

Россия, Санкт-Петербург, Пушкин, 196608, Подбельского, 3

Исследована отзывчивость яровой мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. скороспелых сортов Sonora 64, Ленинградская ранняя и ультраскороспелых линий АФИ177, АФИ91 на инокуляцию бактерий *Bacillus sp. 2026*. Штамм бактерии, стимулирующий рост растений, был выделен из ризосферы пшеницы и идентифицирован как *Bacillus sp. 2026*. Изучение эффектов *Bacillus sp. 2026* проводили в гидропонных и вегетационных экспериментах в контролируемых условиях. 14-дневные проростки (выращенные на растворе Кнопа) и инокулированные *Bacillus sp. 2026* характеризовались повышенным ростом, общим содержанием хлорофилла и каротиноидов, активностью каталазы и пероксидазы. Наоборот, у инокулированных растений снижалась активность перекисного окисления липидов по сравнению с неинокулированными. Установлены сортовые различия в реакции растений пшеницы на инокуляцию бактериями. Наибольшая стимуляция роста проростков отмечена у пшеницы сорта Ленинградская ранняя (на 17%) и линии АФИ177 (на 21%). Достоверное изменение биохимических показателей наблюдалось у ультраскороспелой линии АФИ91.

Инокуляция *Bacillus sp. B2026* сократила время достижения каждой стадии развития у скороспелых генотипов, в первую очередь за счет сокращения длительности начальных этапов онтогенеза от всходов до кущения и от кущения до выхода в трубку. Максимальное ускорение темпов развития зафиксировано у инокулированных растений сорта Ленинградская ранняя. Инокуляция *Bacillus sp. B2026* привела к значительному увеличению урожайности растений (на 33–62%). Результаты показали, что увеличение урожайности зерна скороспелых сортов Sonora 64, Ленинградская ранняя и ультраскороспелых линий пшеницы АФИ91, АФИ177 было в основном обусловлено более высоким числом продуктивных побегов, числом и массой зерна с растения и, что влияние на высоту растений, длину колоса и массу 1 000 зерен было гораздо менее значимым. Стимулирующее действие *Bacillus sp. V2026* на сорта Sonora 64 и Ленинградская ранняя в большей степени выражалось в увеличении количества зерен, тогда как на линии АФИ91 и АФИ177 — в возрастании массы зерна, связанное с увеличением удельного веса зерна колоса по отношению к полове. Генотипы АФИ91 и АФИ177 были наиболее отзывчивыми на инокуляцию *Bacillus sp. V2026* по реакции на изменение содержания в зерне белка, макро- и микроэлементов. Бактерии штамма *Bacillus sp. V2026* могут быть рекомендованы для использования в сельском хозяйстве для повышения урожайности скороспелых сортов пшеницы. Выраженную сортовую отзывчивость пшеницы на действие эндофитных штаммов бактерий необходимо учитывать при создании и использовании биопрепаратов для возделывания пшеницы.

Л. В. Можаровская, П. С. Кирьянов

СКРИНИНГ ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С АНАТОМИЧЕСКИМИ ПРИЗНАКАМИ ДРЕВЕСИНЫ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (*PINUS SYLVESTRIS* L.)

Институт леса НАН Беларуси

Республика Беларусь, 246001, г. Гомель, ул. Пролетарская, 71

e-mail: milamozh@yandex.ru

Одним из важных направлений в лесном хозяйстве является получение древесины с требуемыми качественными характеристиками. К настоящему времени подробно изучено влияние внешних факторов на показатели качества древесины, описаны основные биохимические изменения в процессе морфогенеза клеток древесины. Однако генетическая основа изменчивости структуры древесины изучена лишь частично. Эффективным путем решения данной задачи является использование технологии высокопроизводительного секвенирования и инструментов молекулярно-генетического анализа — ДНК-маркеров, которые позволяют проводить оценку генетического разнообразия и анализ структурно-функциональной изменчивости исследуемых признаков.

В настоящей работе на основе анализа транскриптомных данных сосны обыкновенной проводилась идентификация и аннотация генов, ассоциированных с анатомическими признаками древесины, для последующего формирования набора ДНК-маркеров. Препараты мРНК получали из тканей камбиальных зон стволов возрастных деревьев, высокопроизводительное секвенирование транскриптомов выполняли на базе Ion Torrent. Идентификацию генов, ассоциированных с анатомическими признаками древесины, проводили при использовании базы данных консервативных доменов (CDD) NCBI.

По результатам транскриптомного анализа среди кодирующих последовательностей, характеризующихся наибольшим уровнем экспрессии, выявлен спектр EST-локусов ассоциированных с биосинтезом клеточных компонентов (*TUA*, *TUB*, *MIP*, *PME*, *MYB4*, *ALP*, *LTP*, *TCTP*) и участвующих в формировании древесины (*SUS*, *GST*, *UGP*, *PGM*). Полученные результаты позволят сформировать набор ДНК-маркеров для изучения корреляции между структурным полиморфизмом и экспрессией генов, ассоциированных с анатомическими признаками древесины, и их фенотипическим проявлением — анатомическими показателями древесины деревьев сосны обыкновенной.

Исследование выполнено при финансовой поддержке БРФФИ (проект № Б22М-020).

М. О. Моисеева¹, Т. В. Никонович², Н. В. Дыдышко²

СОЗДАНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА НОВОГО СОРТА ПОЛУОСТРОГО ПЕРЦА БЕЛОРУССКОЙ СЕЛЕКЦИИ

¹УО Витебская государственная академия ветеринарной медицины
Республика Беларусь, 210026, г. Витебск, ул. 1-я Доватора 7/11
e-mail: mariamo1986@mail.ru

²УО Белорусская государственная сельскохозяйственная академия
Республика Беларусь, 213407, Могилевская обл., г. Горки, ул. Мичурина, 5
e-mail: tvnikonovich@gmail.com

В настоящее время перец выращивается практически во всех странах в открытом или защищенном грунте. Он бывает сладким, острым и полуострым. Острота перца обусловлена наличием в плодах горького вещества — алкалоида капсаицина, содержащегося в количестве до 1,0–1,2% от сухой массы. Перец острый — обычно мелкоплодный, с тонкой мякотью, жгучего вкуса и используется преимущественно как приправа. Полуострые сорта более мясистые, имеют разную окраску, ароматны и подходят как для переработки, так и для употребления в свежем виде.

Целью наших исследований являлось создание в условиях Беларуси нового сорта перца, обладающего крупными плодами с толстым перикарпием и полуострым вкусом, а также оценка его биохимического состава и продуктивности. Анализ коллекции сортов и гибридов перца как острого, так и сладкого, которой владеет кафедра сельскохозяйственной биотехнологии, экологии и радиологии УО БГСХА, позволил определить родительские образцы. В результате гибридизации и последующего отбора была создана константная линия, которой присвоено авторское название Моисей. Оценка полученного сорта проводилась в поликарбонатных теплицах кафедры кормопроизводства УО ВГАВМ и названной выше кафедры УО БГСХА в 2020–2022 годах. Основные элементы технологии возделывания перца общепринятые для необогреваемых теплиц. Сборы плодов выполнялись в фазу биологической спелости. Биохимический анализ плодов (содержание сухого вещества, аскорбиновой кислоты, каротина, капсаицина) проводился в химико-экологической лаборатории УО БГСХА по общепринятым методикам: сухое вещество — ГОСТ 27548-97, каротин — ГОСТ 13496.17-95 п.1, витамин С — ГОСТ 24556-89 п.2, капсаицин — по методике А. И. Ермакова.

Полученный сорт является среднеспелым, куст полураскидистый детерминантного типа высотой около 85 см, пригоден для возделывания в необогреваемых теплицах. Плоды удлинено-цилиндрической формы, размером 8 × 11 см, имеют четыре камеры, плотные, ребристость слабая, обладают отделительным слоем. Отмечен высокий процент завязываемости плодов (более 80%). В технической спелости плоды зеленые, в биологической спелости имеют привлекательную желто-оранжевую окраску. Ранняя урожайность составила 1,0 кг/м², товарная урожайность — 5,0–5,2 кг/м², общая урожайность — 5,5–5,6 кг/м². Товарный выход плодов более 90%. Масса плода 120–150 г, толщина стенки перикарпия 6–7 мм. Плоды имеют следующий биохимический состав: сухое вещество 7,67%, каротин 9,3 мг/кг, растворимые углеводы 3,82%, витамин С 113,8 мг/100 г. Указанные показатели находятся на одном уровне с сортами перца сладкого. Однако в плодах выявлено содержание капсаицина 0,023%, что указывает на их слабую остроту. Вкусовые качества консервированных плодов 4,5–5,0 баллов.

Созданный сорт перца является полуострым, крупноплодным и может быть рекомендован для употребления в свежем виде или для переработки.

Б. Б. Наджодов, В. С. Рубец

ХАРАКТЕРИСТИКА ЛИНИЙ МЯГКОЙ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ СЕЛЕКЦИИ СИММУТ ПО ВЕГЕТАЦИОННОМУ ПЕРИОДУ В УСЛОВИЯХ ЦЕНТРАЛЬНОГО РАЙОНА НЕЧЕРНОЗЕМНОЙ ЗОНЫ РОССИИ

*Российский государственный аграрный университет — МСХА имени К. А. Тимирязева
Российская Федерация, 127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49
e-mail: boburnajodov@gmail.com, valentina.rubets50@gmail.com*

В условиях Центрального района Нечерноземной зоны России оценено 15 селекционных линий мягкой яровой пшеницы коллекции СИММУТ по вегетационному периоду. Наиболее ранне-спелыми оказались линии № 59, № 70 и № 152. Продолжительность их вегетационного периода была сравнима со стандартным сортом Злата.

Центральный регион Нечерноземной зоны России относится к зоне рискованного земледелия с недостаточным количеством тепла и избытком влаги на фоне короткого безморозного периода. Возделывание яровых зерновых культур сопряжено с опасностью дождей в период созревания и уборки, что сказывается на итоговой урожайности и качестве зерна. Поэтому оценка исходного материала по продолжительности вегетационного периода является актуальной задачей при селекции высокоурожайных раннеспелых сортов для Нечерноземной зоны РФ.

Цель наших исследований — оценить и выделить наиболее ценные линии синтетической пшеницы из СИММУТ в качестве исходного материала для селекции яровой пшеницы в условиях Центрального района Нечерноземной зоны России.

Материалом для исследований послужили 15 синтетических селекционных линий яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) из Международного Центра по улучшению кукурузы и пшеницы (СИММУТ). Стандартом для сравнения является раннеспелый высокоурожайный сорт Злата (ФИЦ «Немчиновка»). Посев проводился на Полевой опытной станции РГАУ — МСХА имени К. А. Тимирязева. Площадь делянки 1 м², повторность трехкратная, размещение систематическое.

Яровую пшеницу высевали 5 мая 2022 года. В течение вегетационного периода проводили фенологические наблюдения (отмечали даты посева, появление всходов, колошения, восковой спелости). Наступление фенологической фазы отмечали, когда в данной фазе находится около 75% растений на делянке. В селекционном процессе отмечали не все фенологические фазы, а только те, которые имеют значение для оценки межфазных периодов для подбора пар для скрещиваний. Обычно отмечали наступление следующих фаз: всходы, кущение, выход в трубку, колошение, цветение, восковая спелость, полная спелость. Выделены фазы, отмечаемые в селекционном процессе. Подсчитывали межфазные периоды, имеющие значение для характеристики вегетационного периода.

Продолжительность периода от посева яровой пшеницы до появления дружных всходов в наших опытах составила в среднем 8–12 дней. Средняя продолжительность периода всходы-колошение в исследованиях составляла 44–46 дней. Продолжительность периода, начиная с момента посева до наступления полной спелости зерна яровой пшеницы, в зависимости от изучаемых сортообразцов, составила 85–96 дней.

Усредненные данные свидетельствуют, что наиболее короткий вегетационный период составил 85–88 дней и наблюдался у линий синтетической пшеницы № 70 и № 59, а самым продолжительным периодом вегетации отличалась линия № 151 — 96 дней. Остальное изучаемые сортообразцы яровой пшеницы имели в 2022 году продолжительность вегетационного периода в пределах 89–90 дней.

Е. В. Никитина¹, Н. В. Савина², С. В. Кубрак²

ОЦЕНКА ВИДОВОГО РАЗНООБРАЗИЯ РАСТЕНИЙ (LAMIACEAE) В УЗБЕКИСТАНЕ С ПРИМЕНЕНИЕМ ТЕХНОЛОГИИ ДНК-ШТРИХКОДИРОВАНИЯ

¹Институт ботаники Академии наук Республики Узбекистан
Республика Узбекистан, 100125, Ташкент, ул. Дурмон йули, д. 32
e-mail: elenanikita2013@rambler.ru

²Институт генетики и цитологии НАН Беларусь, Минск
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: n.savina@igc.by

В настоящее время в изучении флоры Узбекистана заложены принципы единой государственной системы экологического мониторинга. При этом одной из важнейших задач является исследование наиболее типичных, крупных, а так же отдельных сомнительных таксонов региона.

Семейство *Lamiaceae* Martinov является одним из ведущих во флоре Узбекистана, насчитывая 240 видов, объединенных в 30 родов (Флора Узбекистана, 1961). Представители этого семейства принимают значимое участие в формировании растительного покрова Узбекистана, представляют интерес не только с точки зрения таксономии, статуса редкости и эндемизма, а также в прикладном отношении, являясь перспективными эфиромасличными, лекарственными, медоносными, декоративными и кормовыми растениями. 30 видов данного семейства входят в Красную Книгу Узбекистана (2019), а также в Красную книгу Международного союза охраны природы (IUCN Red List of Threatened Species, <https://www.iucnredlist.org/>), в связи с чем возникает необходимость сохранения и поддержания их видового разнообразия.

Важность инвентаризации дикорастущих видов *Lamiaceae* обусловлена необходимостью оценки видового разнообразия некоторых родов семейства на основе классических методов и ДНК-штрихкодирования. На территории Узбекистана произрастают представители четырех подсемейств: *Nepetoideae* (Dumortier) Luerssen, *Lamioideae* Harley, *Scutellarioideae* (Dumortier) Caruel, *Ajugoideae* Kostel. Цель исследования — молекулярно-генетическая инвентаризация дикорастущих видов семейства *Lamiaceae* флоры Узбекистана с помощью четырехлокусной комбинации ДНК маркеров. В работе использованы пластидные маркеры *rbcL*, *matK*, *trnL-trnF* и один маркер ядерной последовательности *ITS*.

С помощью консенсусных последовательностей филогенетически значимого маркера *ITS*, полученных для 49 видов, дана оценка уровня видового разнообразия семейства *Lamiaceae* во флоре Узбекистана; все последовательности депонированы в международную базу данных Генбанк (ncbi.nlm.nih.gov) с присвоением ID номеров.

Реконструкцию дерева проводили путем сравнения последовательностей с использованием алгоритма максимального правдоподобия (ML) в программе MegaX, для оценки достоверности топологии полученного филогенетического дерева применяли Bootstrap-анализ (1 000 повторностей). Иерархическая кластеризация показала генетическое разделение семейства *Lamiaceae* на 3 сильно поддерживаемых, достоверно различающихся кластера с высоким значением Bootstrap. Пять родов *Salvia* L., *Dracosephalum* L., *Nepeta* L., *Ziziphora* L., *Lallemantia* Fisch. et C. A. Mey. образуют первый кластер подсемейства *Nepetoideae*. Представители родов *Otostegia* Benth., *Eremostachys* Bunge, *Phlomis* Moench, *Phlomis* L., *Leonurus* L., *Lagochilus* Bunge ex Benth. сгруппированы во второй кластер подсемейства *Lamioideae*. Молекулярно-филогенетический анализ разместил род *Scutellaria* L. в подсемейство *Scutellarioideae*.

Таким образом, результаты наших исследований демонстрируют эффективность использования ДНК-штрихкодирования в качестве инструмента для оценки видового разнообразия флоры Узбекистана.

Т. В. Никонович¹, А. В. Константинов²

ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ МОРФОГЕНЕЗА ТОМАТА В УСЛОВИЯХ *IN VITRO* ПРИ РАЗЛИЧНОМ СВЕТОДИОДНОМ ОСВЕЩЕНИИ

¹УО Белорусская государственная сельскохозяйственная академия
Республика Беларусь, 213407, Могилевская обл., г. Горки, ул. Мичурина, 5
e-mail: tvnikonovich@gmail.com

²Институт леса НАН Беларуси
Республика Беларусь, 246001, г. Гомель, ул. Пролетарская, 71
e-mail: avkonstantinof@mail.ru

Клеточная селекция растений, полученных способом непрямого морфогенеза в результате проявления соматклональной изменчивости, позволяет расширять спектр генетического разнообразия исходного материала без внедрения чужеродных генов. В качестве физических факторов, вызывающих цитогенетические изменения в культивируемых *in vitro* растениях, перспективным является использование установок на основе света искусственных диодов.

Целью наших исследований являлось установление степени и характера влияния светодиодного освещения различной интенсивности и спектрального состава на частоту появления соматклональной вариабельности как нового источника селекционного процесса и проведения первичного селекционного отбора на клеточном и тканевом уровнях.

Для оценки влияния светодиодного освещения различного спектрального состава на формирование растений-регенерантов был определен сорт томата белорусской селекции Зорка, который является раннеспелым, детерминантным, пригодным для выращивания в открытом грунте. В культуру *in vitro* вводились семена. Полученные семядоли пересаживались на искусственные питательные среды для регенерации растений. Выявлен наиболее приемлемый их состав, в котором в качестве регуляторов роста применялись ИУК и кинетин. Данные химические факторы в сочетании с синим светодиодным освещением способствовали формированию эмбриогенных каллусов и получению растений-регенерантов, причем значительно быстрее, в сравнение с другими световыми условиями.

Изученные образцы томатов, прошедшие цикл культивирования *in vitro*, характеризовались генетической изменчивостью, выражавшейся структурными перестройками генома в форме образования дополнительных маркерных регионов либо элиминацией отдельных из них. Отмечена целесообразность использования праймеров UBC-106, UBC-254, UBC-337, K12, которые позволили выявить соматклональную вариабельность в условиях *in vitro*. В ходе анализа RAPD-спектров составлены генетические паспорта исследуемых регенерантов томата по 13 локусам.

Установлены варианты спектрального состава света светодиодных источников, которые определены в качестве перспективных для разработки системы клеточной селекции регенерантов и индукции соматических мутаций. Это светодиодный светильник, содержащий два типа светодиодов: синий, красный и дополнительный — зеленый, доля которого составила 2% от ППФ в диапазоне ФАР, а также освещение с эффективностью излучения фотонов 1,85 и 2,03 мкмоль/с·Вт. Выявленные световые условия способствовали получению значительной генетической гетерогенности эксплантов в культуре *in vitro*. Создана коллекция ДНК соматклонов томата.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского Республиканского фонда фундаментальных исследований по гранту № Б21-069.

В. В. Опимах¹, Т. В. Печковская²**ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПРИРОДЫ ПРИЗНАКА ОДНОСЕЯННОСТИ
ИСХОДНЫХ ЛИНИЙ СВЕКЛЫ СТОЛОВОЙ**¹РУП «Институт овощеводства»

Республика Беларусь, 223013, аг. Самохваловичи, ул. Ковалева, 2

e-mail: ilisava@mail.ru²Институт генетики и цитологии НАН Беларуси

Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27

Возделывание многосемянных сортов свеклы столовой неизбежно связано с дополнительными затратами на формирование густоты насаждения. В Государственном реестре сортов и древесно-кустарниковых пород Республики Беларусь значительная доля (до 90%) районированных сортов и гибридов свеклы столовой обладают многосемянным уровнем плодности, в то время как все районированные сорта и гибриды сахарной свеклы односемянные. Создание и внедрение новых односемянных сортов и гибридов столовой свеклы — один из путей увеличения эффективности ее производства. Признак односемянности или раздельноплодности сорта имеет огромное значение, так как при использовании сеялок точного высева обеспечивается равномерное размещение семян в рядке, отпадает необходимость проведения такого обязательного агроприема, как прореживание растений в рядках, на что расходуется до 25–30% всех затрат и снижается норма высева семян на 30–35%. Многоростковость свеклы вызывается тремя различными биологическими механизмами: срастание плодов, многосемянность плодов, многозародышевость семян (истинная и ложная полиэмбриония). У одноростковых растений свеклы на цветоносных побегах закладываются, как правило, одиночные цветки, из которых образуются плоды, обычно с одним семенем внутри. В. Ф. Савицким установлено, что многосемянность и односемянность плодов свеклы контролируется серией аллелей генов $M - m$. Исследованиями И. Ф. Голева установлено, что раздельноплодность — рецессивный признак при неполном доминировании признака сростоплодности, что свидетельствует о значительном влиянии плодности материнской формы. О. К. Коломиец, Т. М. Пискунова пришли к выводу о рецессивности признака односемянности. В популяциях многосемянной свеклы ген M может иногда мутировать до m , и тогда возникают гомозиготные формы — mm (полностью односемянные). Появление таких форм наблюдал Т. Ф. Гринько (1929) при самоопылении, а затем такой мутант был обнаружен американскими селекционерами. Кроме того, следует учесть, что среда является мощным фактором отбора.

Условия выращивания (питание, освещенность, влага и др.) семенных растений в значительной степени влияют на количество цветков в соцветии: в неблагоприятных условиях сильно меняется в сторону уменьшения количество цветков в клубочке у одного и того же генотипа. Это в значительной степени затрудняет работу селекционера. Разница в проявлении двусемянков при выращивании на высоком агрофоне составляла 10–25% на семьях и индивидуальных растениях отобранных из сортов Гаспадыня, Односемянная, Одноростковая и др.

Планируется провести молекулярно-генетический анализ выделенных образцов свеклы столовой по признаку односемянности.

О. А. Орловская, С. И. Вакула, Л. В. Хотылёва, А. В. Кильчевский

АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ЗЕРНА ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ С ИНТРОГРЕССИЯМИ ЧУЖЕРОДНОГО ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: O.Orlovskaya@igc.by

Для оценки пищевого достоинства зерна пшеницы наряду с общим содержанием белка важен его аминокислотный состав. Наибольшее значение имеют незаменимые аминокислоты, которые не синтезируются в организме человека: лизин, метионин, триптофан, валин, изолейцин, лейцин, треонин, фенилаланин. При недостаточном поступлении данных аминокислот с пищей нарушаются нормальное развитие и жизнедеятельность организма человека. В связи с этим мы изучили аминокислотный состав зерна у 19 линий мягкой пшеницы с генетическим материалом *T. dicoccoides*, *T. dicoccum*, *T. spelta*, *T. kiharae* и их родительских форм. Определение концентрации 17 аминокислот в зерне пшеницы проводили в Республиканском контрольно-испытательном комплексе по качеству и безопасности продуктов питания РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по продовольствию» согласно требованиям ГОСТ 8.010-90. Для снижения размерности данных аминокислотного состава белка и выделения признаков, значимых для классификации исследуемых линий пшеницы, проведен анализ главных компонент. Протокол анализа ограничили двумя главными компонентами, объясняющими 73% общей вариации данных. Первая компонента (собственное значение 3,43) объясняет 51% совокупной дисперсии данных и в значительной мере определяется концентрацией глютаминовой кислоты и фенилаланина. Вторая компонента, собственное значение которой составило 1,53, описывает 22% изменчивости и коррелирует с содержанием пролина, аспарагиновой кислоты, глицина и аргинина. Установлено, что сорта *T. aestivum* характеризуются пониженным содержанием фенилаланина, аспарагиновой и глютаминовой кислот, высоким уровнем пролина. Высокие значения второй главной компоненты указывают на низкое содержание в зерне родственных видов мягкой пшеницы глицина и аргинина, при высокой концентрации пролина и лизина. Можно отметить, что изученные образцы рода *Triticum* накапливают больше глютаминовой и аспарагиновой кислот, пролина, фенилаланина, лейцина, изолейцина и лизина, чем культурные сорта (на 0,12–1,57% в зависимости от аминокислоты). Интрогрессивные линии характеризуются широким генетическим разнообразием по признакам аминокислотного состава и, как правило, богаты глютаминовой и аспарагиновой кислотами, аргинином, глицином, фенилаланином. В среднем в группе интрогрессивных линий содержание всех изученных аминокислот было выше, чем у родительских форм, за исключением пролина и лизина. Выделены линии с высоким суммарным количеством незаменимых аминокислот, которые представляют интерес для повышения питательной ценности зерна мягкой пшеницы.

А. В. Падутов, М. П. Кусенкова

СОМАКЛОНАЛЬНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ КЛОНОВ ЕЛИ ЕВРОПЕЙСКОЙ ПРИ СОМАТИЧЕСКОМ ЭМБРИОГЕНЕЗЕ

Институт леса НАН Беларуси

Республика Беларусь, 246050, г. Гомель, ул. Пролетарская, 71

e-mail: apadutov@yandex.ru

Соматический эмбриогенез — один из вариантов микроклонального размножения. Его отличительной чертой является получение эмбрионного каллуса, внутри которого массово происходит формирование и созревание соматических зародышей (эмбриоидов). Каждая такая структура может дать начало полноценному растению. Существенным недостатком описанного процесса является высокая вероятность появления соматической изменчивости, что обуславливает актуальность ее изучения.

В качестве экспериментального материала для изучения проявлений соматической изменчивости в эмбрионных культурах ели европейской нами было исследовано шесть ранее полученных клеточных линий. Отобранный материал для проведения молекулярно-генетического анализа был представлен группой из двух образцов каллусной ткани, а также проростков с нормальной и аномальной морфологией, полученных от каждой из клеточных линий. Выделение ДНК осуществлялось с использованием СТАВ-метода. В качестве ДНК-маркеров были использованы пять SSR-локусов: Ра 28, Ра 33, Ра 56, Ра 47 и Ра 52. В случае отобранных образцов данные праймеры проявили различный уровень полиморфности. Наиболее полиморфным локусом является Ра 28 (4 аллеля), локусы Ра 56 и Ра 33 проявили меньшую полиморфность, и в их случае было выделено 3 и 2 аллеля соответственно. Локусы Ра 47 и Ра 52 оказались мономорфными. В ходе исследований было установлено, что группа под номером 1, происходящая от одной клеточной линии, отличается гомозиготностью по всем изученным праймерам, в то время как группа 2 проявляет гетерозиготность по трем локусам из пяти, остальные группы были гетерозиготны по двум локусам.

В результате проведенных работ по локусу Ра 28 были выявлены примеры миксоплоидии. Так, у клеточной линии под номером 4 было выявлено присутствие 3 аллелей. В то время как аллель 161 явно превалирует над двумя остальными от 56 до 68%, аллели 164 и 167 имеют примерно равное соотношение 20 к 24% и 17 к 17% соответственно. Похожая ситуация с линиями 5 и 6, в их случае присутствуют одновременно четыре аллеля, однако наиболее активны как у каллусов, так и у проростков два аллельных варианта 155 и 164, в то время как аллели 161 и 167 были явно угнетены.

Так же было выявлено, что представленность угнетенных аллелей, у образцов с миксоплоидией, в генетическом профиле нормальных проростков значительно ниже, чем у деформированных. Так, в случае группы под номером 4, дополнительный аллель представлен всего 2%, в то время как у деформированного проростка данный аллель имеет 7%. В группах 5 и 6 похожая ситуация, у нормальных проростков дополнительные аллели представлены от 4 до 6%, тогда как у деформированных проростков от 9 до 18%. Подобные результаты можно объяснить проявлением микросателлитной нестабильности вследствие влияния соматических мутаций, образующихся при получении эмбриоидов или же проявлением накопления генетических нарушений. Исследование по данному направлению продолжается.

Работа выполнена при поддержке гранта БРФФИ № Б21М-071 «Влияние уровня миксоплоидии эмбрионных культур ели европейской на морфо-физиологические характеристики развития эмбриоидов».

В. Е. Падутов, С. И. Ивановская, Д. И. Каган

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ СОСНЯКОВ БЕЛАРУСИ: ВЛИЯНИЕ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ НА ИХ УРОВЕНЬ

Институт леса НАН Беларуси

Республика Беларусь, 246050, г. Гомель, ул. Пролетарская, 71

e-mail: forestgen@mail.ru

Воздействие совокупности антропогенных факторов радикально изменяет естественную среду обитания видов, и все большее значение приобретает проблема сохранения и рационального использования видовых генофондов. При проведении генетического анализа объектов сохранения генофонда сосны обыкновенной и древостоев естественного происхождения в лесах хозяйственного использования установлена взаимосвязь между степенью антропогенной нагрузки в сосняках и величиной генетического разнообразия. Выявлено, что по мере снижения интенсивности лесохозяйственной деятельности возрастает генетическое разнообразие: «леса хозяйственного использования (H_e — 0,240; H_o — 0,247) → «плюсовые лесные насаждения» (H_e — 0,253; H_o — 0,258) → лесные генетические резерваты (H_e — 0,261; H_o — 0,270) → заповедники и национальные парки (H_e — 0,258; H_o — 0,268)». Следует отметить, что значения показателей H_e и H_o в объектах сохранения генофонда достоверно ($P < 0,01$) превышают таковые в лесах хозяйственного использования. Наиболее высокие параметры изменчивости, находящиеся у верхнего предела генетического разнообразия сосны обыкновенной, установлены для сосняков Национального парка «Беловежская пуща» (P_{95} — 0,65; P_{99} — 0,95; A — 3,10; $A_{1\%}$ — 2,50; H_e — 0,259; H_o — 0,275).

Проведение лесохозяйственных мероприятий в лесах оказывает влияние не только на уровень гетерозиготности, но и на возрастную динамику этого популяционно-генетического параметра. В древостоях сосны обыкновенной с ограниченной лесохозяйственной деятельностью («плюсовые насаждения») проявляется тенденция к положительной корреляции между возрастом и значением наблюдаемой гетерозиготности. Рассчитанные коэффициенты корреляции (r) свидетельствуют о наличии достоверной прямой связи между величиной параметра наблюдаемая гетерозиготность и возрастом древостоя ($r = 0,849$). В то же время в лесах хозяйственного использования корреляция для этих признаков выявлена не была (коэффициент корреляции — 0,269), что позволяет говорить о нарушении естественного хода популяционных процессов в результате лесохозяйственной деятельности.

Рубки главного пользования являются самой активной формой воздействия на все компоненты лесного сообщества. Наиболее перспективными при ведении экологически ориентированного лесного хозяйства признаны постепенные рубки, так как направлены на естественное возобновление леса. Оценка генофонда сосняков на различных этапах проведения полосно- и равномерно постепенных рубок показала, что наиболее оптимальными для сохранения генофонда и генетической структуры исходных древостоев являются полосно-постепенные рубки главного пользования, так как при их проведении не происходит снижения генетического разнообразия и изменения генетической структуры насаждений.

С. В. Пантелеев¹, И. А. Хархасова¹, А. В. Константинов¹, М. Я. Острикова¹,
Л. О. Иващенко², В. А. Ярмолович², О. Ю. Баранов¹

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА МИКОРИЗООБРАЗУЮЩЕЙ МИКРОФЛОРЫ СОСНЫ И ЕЛИ В ЛЕСНЫХ ПИТОМНИКАХ И КУЛЬТУРАХ

¹Институт леса НАН Беларуси

Республика Беларусь, 246050, г. Гомель, ул. Пролетарская, 71
e-mail: pukidesu@gmail.com

²Белорусский государственный технологический университет

Республика Беларусь, 220006, г. Минск, ул. Свердлова, 13А
e-mail: lyba281997@mail.ru

Экспериментальный растительный материал сосны и ели (корни, 264 образца) был собран в лесных питомниках и культурах 4–6-летнего возраста на территории Корневской, Двинской экспериментальных лесных баз Института леса НАН Беларуси и шести лесхозов Минлесхоза: Речицкий опытный, Быховский, Воложинский, Минский лесхозы, Негорельский и Полоцкий учебно-опытные лесхозы.

Для выделения ДНК отбирались корневые окончания размером 1–5 мм и промывались дистиллированной водой. Получение препаратов ДНК осуществлялось с использованием СТАВ-метода (Падутов и др., 2007). Этап нагревания гомогенизированных образцов при температуре 65 °С не проводился во избежание экстракции веществ, ингибирующих ПЦР. ПЦР проводилась с применением набора DreamTaq Green PCR Master Mix (2X) и праймеров ITS1F (5'→3') CTTGGTCATTAGAGGAAGTAA / ITS2*FAM (5'→3') GCTGCGTTCTTCATCGATGC (White et al, 1990; Gardes & Bruns, 1993) для амплификации региона BTC1 грибной рДНК. Фрагментный анализ и секвенирование ампликонов проводились на базе генетического анализатора ABI3500 Applied Biosystems.

В результате анализа секвенированных последовательностей BTC1 в NCBI BLAST выявлено 24 вида из отдела Basidiomycota, 10 — из отдела Ascomycota, а также 3 гриба, не имеющих таксономического статуса (98–100% сходство по нуклеотидной последовательности BTC1 с депозитами NCBI — uncultured fungus).

В лесных питомниках на 2-х летних сеянцах сосны и ели доминировали эктомикоризные аскомицеты *Wilcoxina mikolae*, *Wilcoxina* sp. и эндомикоризные грибы *Phialocephala fortinii* и *P. uotiloensis*. *Wilcoxina* sp. — вид, характеризующийся 8% различием с *W. mikolae* по маркерному региону BTC1. В меньшей степени встречались микоризные грибы *Suillus luteus*, *Tuber maculatum*, *Pustularia* sp. и *Peziza* sp. (MH794939.1). В единичных случаях доминировали ассоциированные с корнями аскомицеты *Tetracladium furcatum*, *Exophiala equina*, *Oidiodendron maius* и 3 неизвестных гриба, один из которых характеризовался идентичностью по BTC1-локусу с депозитом NCBI MW215033.1, выявленным в лесном питомнике Литвы в ризосфере сеянцев.

В исследованных лесных культурах 4–6-летнего возраста на корнях сосны и ели доминировали микоризные грибы *Amanita rubescens*, *A. citrina*, *Boletus edulis*, *Coprinellus domesticus*, *Elaphomyces granulatus*, *Imleria badia*, *Lactarius tabidus*, *L. glyciosmus*, *L. torminosus*, *L. rufus*, *Russula turci*, *R. vesca*, *Suillus luteus*, *S. bovinus*, *Thelephora terrestris*, *Tuber maculatum*, *Tuber* sp.1 (uncultured), *Tuber* sp.2 (uncultured), *Trechisporales* sp. (описание более низких таксономических рангов отсутствует), *Phialocephala fortinii*, *Tomentella lateritia*, *Tomentella* sp. 1 DK-2015 (KT182920.1), *Tylospora* sp. (uncultured), *T. asterophora*, *Xerocomus ferrugineus*, а также эндофиты *Trichoderma* spp. Данные секвенирования согласованы с электрофоретическими спектрами фрагментного анализа с целью дальнейшей диагностики поливидовой микобиоты корней.

Т. В. Печковская¹, О. С. Провоторова², А. Я. Хлебородов², Л. В. Хотылёва¹,
А. В. Кильчевский¹

ВЫЯВЛЕНИЕ СВЯЗИ МЕЖДУ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ПЕРОНОСПОРОЗУ ЛИНИЙ ОГУРЦА ПОСЕВНОГО И НАЛИЧИЕМ В НИХ ОПРЕДЕЛЕННЫХ ЛОКУСОВ ГЕНОМА

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: T.Pechkovskaya@igc.by

²РУП «Институт овощеводства»
Республика Беларусь, 223013, Минская обл., Минский р-н,
аг. Самохваловичи, ул. Ковалёва, 2

Огурец посевной (*Cucumis sativus* L.) (геном $2n = 2x = 14$) обладает высокими питательными диетическими свойствами. В Республике Беларусь он широко возделывается среди овощных культур. Однако выращиванию данной культуры часто препятствуют растительные патогены, вызывающие уменьшение либо потерю урожая. Одним из фитопатогенов огурца посевного является облигатная биотрофная оомицета псевдопероноспора *Pseudoperonospora cubensis* [(Berkeley & M. A. Curtis) Rostowzev] (PC), вызывающая ложную мучнистую росу (пероноспороз). Это очень разрушительное заболевание, которое при благоприятных условиях может прогрессировать довольно быстро с потерей листы огурца в течение нескольких дней. Наиболее эффективным способом контроля вредоносного действия данного гриба является создание и выращивание устойчивых форм огурца посевного (сортов и гибридов F_1), что достигается выявлением у растительных образцов определенных локусов в геноме, ассоциированных с невосприимчивостью к псевдопероноспоре.

В работе использовано 11 линий селекции огурца посевного РУП «Институт овощеводства» с различной степенью устойчивости к пероноспорозу после искусственного заражения в закрытом тепличном отделении (9 баллов — очень высокая, 7 баллов — высокая, 5 баллов — средняя, 3 балла — низкая и 1 балл — очень низкая; растения в 9 и 7 баллов не теряют в количестве и качестве урожая): «Л10» (все индивидуальные растения на 5 баллов), «Л25» (все на 3 балла), «Л145» (70% растений на 7 баллов и 30% на 5 баллов), «Л167» (все на 5 баллов), «Н-1» (все на 7 баллов), «Н-2» (все на 3 балла), «Н-3» (62,5% на 7 баллов и 37,5% на 5 баллов), «Л160/1» (50% на 5 баллов и 50% на 7 баллов), «Гермафродит-1» (все на 3 балла), «Гермафродит-2» (все на 3 балла) и «Л13» (все на 3 балла). Выполнен молекулярно-генетический анализ на основе ДНК с использованием маркеров SSR для ПЦР (SSR16110, SSR20486, SSR05125, SSR20705, SSR00772, UW053068, UW059163 и SSR16882). Для выявления связи между результатами фенотипической и молекулярно-генетической оценки применен χ^2 -критерий для фенотипических классов «3», «5» и «7» (значение класса соответствует баллу устойчивости к пероноспорозу селекционных линий огурца посевного).

Получено 17 аллельных вариантов согласно оценке ДНК-фингерпринтингов. Анализ связи показал влияние локуса *SSR16882*_{-218/218} на проявление устойчивости (7 баллов) к пероноспорозу у данных линий, что позволяет рекомендовать маркер *SSR16882* (F, 5'→3': CACCTCAACTCCTCCATTCAA; R, 5'→3': TGGAGGTCATTGAGACTTGCT) для поиска устойчивых к ложной мучнистой росе образцов огурца посевного.

Ж. С. Пилипенко, С. И. Гриб

ОЦЕНКА АДАПТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА УРОЖАЙНОСТИ ЗЕРНА СОРТООБРАЗЦОВ КОЛЛЕКЦИИ ЯРОВОГО ТРИТИКАЛЕ

*РУП «Научно практический центр НАН Беларуси по земледелию»
Республика Беларусь, 222160, г. Жодино, ул. Тимирязева, 1
e-mail: triticale@tut.by*

Цель исследований — провести сравнительную оценку адаптивного потенциала урожайности зерна коллекционных сортообразцов ярового тритикале, различных по эколого-географическому происхождению.

Экспериментальная часть работы проведена в коллекционном питомнике на опытных полях РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию». Наблюдения, оценки и учеты проводились согласно методике ВИР. Объект исследований — 43 сортообразца ярового тритикале из разных стран мира. В качестве контроля использовали районированный сорт ярового тритикале Узор. В годы исследований метеорологические условия различались по влагообеспеченности и температурному режиму.

В процессе изучения коллекции установлено, что за годы исследования средняя урожайность коллекционных сортообразцов составила 57,9 ц/га, а контроля Узор — 62,4 ц/га. Максимальная урожайность отмечена у сортообразца белорусской селекции Рубин (70,8 ц/га), а минимальная — у образца Орбита (42,4 ц/га).

Оценку адаптивного потенциала урожайности сортообразцов ярового тритикале определяли по показателям: уровня устойчивости сортов к стрессовым условиям произрастания и компенсаторной способности (А. А. Гончаренко, 2005), уровня стабильности сорта (ПУСС) (Э. Д. Неттевич, 1985), коэффициента адаптивности (Л. А. Житков, 1994).

При анализе показателей адаптивного потенциала урожайности зерна выделены сортообразцы с высокой потенциальной урожайностью, характеризующиеся повышенным уровнем стрессоустойчивости к абиотическим факторам. В наших исследованиях относительно высокую стрессоустойчивость показали сортообразцы ITSN–8051, Амиго, ITSN–8038 (RUS), Клад (BLR). Оценку стрессоустойчивости сортов целесообразно дополнить показателем компенсаторной способности, которая выражает степень соответствия генотипа сорта факторам среды. Высокой компенсаторной способностью обладают сорта и сортообразцы Dublet, Nogano, Kargo, Miesko, Mateiko (POL), ITSN–8038, T-476, Амиго (RUS), Норман (RUS, BLR), Рубин, Русло Магнит (BLR), WS–104 (DEU).

По величине показателя ПУСС, высокой стабильностью и урожайностью выделились коллекционные образцы Dublet, Nogano (POL), Память Мережко (RUS), Ульяна, Рубин, Лотас, T-2298 (BLR), Виктория (UKR) у которых значение ПУСС более 150%.

Сорта и сортообразцы коллекции ярового тритикале в наших исследованиях проявили разный адаптивный потенциал. Образцы Рубин, Клад, Садко, Русло, Магнит, T–2551, (BLR), Dublet, Nogano, Mateiko, Miesko, Kargo (POL), Амиго, ITSN–8038, ITSN–8051, Норман, T-476 (RUS), Виктория (UKR) включая контрольный сорт Узор, способны лучше выдерживать неблагоприятные факторы окружающей среды и максимально реализовывать свой потенциал урожайности. По сочетанию показателей урожайности, адаптивности и стабильности выделены сорта польской селекции Dublet, Nogano и сортообразец белорусской селекции Рубин.

Д. К. Рашидова, Д. М. Даминова

СОСТОЯНИЕ ОРГАНИЧЕСКОГО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА В УЗБЕКИСТАНЕ

*Научно-исследовательский институт селекции, семеноводства
и агротехнологии выращивания хлопка
Республика Узбекистан, 111218, г. Ташкент, ул. Университетская, 1
e-mail: etoile111@mail.ru*

В последнее время в мире большое развитие получило органическое сельское хозяйство и рынок органической сельхозпродукции, включая посевные семена. Идея органического сельского хозяйства для Республики Узбекистан не нова, так как страна имеет свои исторические тенденции традиционных низкозатратных методов ведения сельского хозяйства. Многовековая культура традиционного сельского хозяйства в Узбекистане первоначально была основана на принципах биологического земледелия с использованием лишь органических удобрений.

Узбекистан имеет большой потенциал для внедрения и широкого использования органического сельского хозяйства. В 2016 году Узбекистан имел 563 га общей площади органических пахотных земель, при этом 6 тыс га целинных земель было сертифицировано в соответствии с правилами органического земледелия, против 0 га в 2013 году. В течение последних лет площадь органических земель в Узбекистане каждый год увеличивается примерно на 250 га. Согласно последним данным Государственного комитета Республики Узбекистан, по статистике, площадь пастбищ и сенокосов составляет более 21 млн га, богарных земель — 0,75 млн га (Нурбеков и др., 2018).

Все земли сельскохозяйственного назначения являются благоприятной средой для выращивания многих культур от зерновых, технических, бобовых и масличных до винограда и фруктовых деревьев. В целом, пастбищные угодья являются национальным богатством Узбекистана и основным источником очень дешевых кормовых ресурсов для животноводства. Пастбища и сенокосы также являются основным источником лекарственных и ароматических растений, которые могут собираться по органическим правилам, а также являются основой для производства органического меда, так как пчеловодство дает хорошую возможность для малого бизнеса. Согласно имеющейся информации, органические продукты уже реализуются. Так, органические продукты, произведенные в Узбекистане (такие как миндаль и фисташки) и сертифицированные в соответствии с регламентом, уже представлены на полках европейских магазинов с органическим логотипом ЕС.

Перспективы для органического сельского хозяйства в Узбекистане очень положительные. Темпы роста, показанные за последние несколько лет, предполагают быстрое и значительное развитие данного сектора. Узбекистан может стать центральной площадкой для производства высококачественных органических продуктов, таких как курага, грецкий орех, изюм, а также лекарственные и ароматические растения (Соатов, 2017).

Что касается возделывания хлопчатника — в Узбекистане за последние 15–16 лет, в результате диверсификации сельскохозяйственных угодий, сокращается его посевная площадь. Однако хлопковый сектор, хотя к 2018 г. по сравнению с 2005 г. его площадь уменьшилась на 75,3%, по-прежнему занимает большую часть (1/3) от общей посевной площади. Хлопководство больше, чем любая другая отрасль, использует минеральные удобрения, вредные химические вещества для борьбы с вредителями, что является источником экологических проблем (Абдуллаева, 2019).

В связи с этим перед нами стоит важная задача — разработка технологии использования органического земледелия, основанного Международной федерацией движения за органическое земледелие (IFOAM), для производства высококачественных семян хлопчатника, над чем в настоящее время ведутся исследования в нашем институте.

О. В. Романова

**ГИНОГЕННАЯ ОТЗЫВЧИВОСТЬ СЕМЯПОЧЕК ОГУРЦА
(*CUCUMIS SATIVUM* L.) В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO* ПРИ РАЗНОЙ
КОНЦЕНТРАЦИИ САХАРОЗЫ В СОСТАВЕ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ**

ФГБНУ Федеральный научный центр овощеводства
Россия, 143072, Московская обл., Одинцовский городской округ,
п. ВНИИССОК, ул. Селекционная, д. 14
e-mail: romanova_olga@vniissok.ru

Впервые гаплоидные эмбриониды и растения кабачка в культуре неоплодотворенных семяпочек/завязей *in vitro* получили Chambonnet и Dumas de Vaulx (1985) и с тех пор гиногенез использовался на тыкве (Kwack, Fujieda, 1988; Sun et al., 2009; Min et al., 2016), кабачке (Metwally et al., 1998b), дыне (Ficcadenti et al., 1999), огурце (Ge'mesne' et al., 1997; Ge'mes-Juha'sz et al., 2002) и других тыквенных культурах (Rakha et al., 2012). Культура неоплодотворенных семяпочек/завязей *in vitro* является наиболее популярным методом индукции гаплоидии у огурца.

Углеводы используются в культуре *in vitro* в качестве осмотического агента, источника энергии и углерода. Сахароза в культуральных средах гидролизруется на глюкозу и фруктозу (Thorpe et al., 2007) под действием инвертазы, расположенной в клеточных стенках растений (Burstrom, 1957; Yoshida et al., 1973), или путем высвобождения внеклеточного фермента (King, Street, 1977). Концентрация сахарозы в индукционной среде оказывает значительное влияние на эмбриональное развитие неоплодотворенных семяпочек/завязей *in vitro* (Dong et al., 2016). Для кабачка, огурца и дыни используется индукционная среда с концентрацией сахарозы 3% (Metwally et al., 1998a, b; Suprunova, Shmykova, 2008; Diao et al., 2009; Sun et al., 2009; Malik et al., 2011; Moqbeli et al., 2013; Koli, Murthy, 2013; Min et al., 2016). Однако оптимальная концентрация сахарозы сильно отличается даже у близкородственных генотипов, поэтому целью нашей работы было оценить влияние разных концентраций сахарозы (0–10%) на индукцию семяпочек огурца (*Cucumis sativus* L.), а также индукционную отзывчивость разных генотипов огурца.

Всего в эксперименте на питательных средах с разной концентрацией сахарозы (0–10%) из 450 выделенных семяпочек огурца с. о. № 101 гиногенное развитие было индуцировано у 121 семяпочки (27%), тогда как у с. о. № 70 — 59 семяпочек (13%).

В результате изучения влияния содержания сахарозы в питательной среде на индукцию эмбриогенеза с. о. огурца № 70 и № 101 (*Cucumis sativum* L.) наибольшее количество индуцированных «зеленых» семяпочек было получено на питательной среде с 4% сахарозой, что согласуется с литературными данными (Winkelmann, 2016). Появление индуцированных «зеленых» семяпочек на питательной среде без сахарозы (0%), связано, вероятно, с запасами сахарозы в самой семяпочке огурца. Тогда как небольшое количество индуцированных «зеленых» семяпочек на питательной среде с концентрацией сахарозы 6% и их отсутствие на питательных средах с 8% и 10% сахарозы связано с угнетением процесса фотосинтеза из-за высокой концентрации углевода, как это было описано в предыдущих исследованиях (Rier, Chen, 1964; Edelman, Hanson, 1972). Более отзывчивым к условиям эксперимента оказался с. о. № 101 — количество индуцированных «зеленых» семяпочек на питательной среде с концентрацией сахарозы 4% составило 63% (47 шт.).

По результатам двухфакторного дисперсионного анализа с повторениями концентрация сахарозы в питательной среде оказалась главным фактором (71%).

Е. А. Ротарь, М. В. Дрегля

МОДЕЛЬ СОРТА ЗЕРНОВОГО СОРГО В УСЛОВИЯХ НОВЫХ ЭКОНОМИЧЕСКИХ РЕАЛИЙ

Институт Растениеводства «Порумбень»

Республика Молдова, MD4834, Криулянский район, Пашкань

e-mail: ifporumbeni@rambler.ru

В настоящее время рост цен на энергоносители спровоцировал энергетический кризис, который охватывает сегодня практически все страны нашей планеты, оказывая большое влияние на все виды деятельности, включая и сельское хозяйство. Однако цены на энергоносители не влияют на глобальные процессы, такие как климатические изменения и рост населения, которое могут привести к продовольственному кризису. Решением проблемы алиментарного дефицита может стать внедрение в сельскохозяйственную практику засухоустойчивых культур, таких как сорго.

Известно, что успешная интродукция любой культуры в долгосрочной перспективе может осуществляться посредством внедрения местных сортов и гибридов, адаптированных к локальным климатическим и почвенным условиям. При этом эффективная селекция основывается прежде всего на четком видении модели сорта или гибрида. До недавнего времени основными требованиями к местным сортовым и гибридным моделям зернового сорго были: скороспелость и крупносемянность. Однако во влажные годы в Республике Молдова даже сверхскороспелые гибриды зернового сорго имеют высокую влажность при уборке. Это резко увеличивает потребление энергии в послеуборочный период, а учитывая нынешний тренд цен на энергоносители может сделать возделывание зернового сорго нерентабельным в условиях нашей страны. Одним из довольно перспективных решений этой проблемы является использование десикантов. Они провоцируют снижение влажности семян в короткие сроки до уборки, но их применение возможно только на растениях зернового сорго малой высоты для упрощения предуборочной химической обработки. Данное требование выдвигает дополнительное условие к модели сорта или гибрида зернового сорго — низкорослость.

Таким образом, основными требованиями к моделям местных сортов и гибридов зернового сорго для условий Республики Молдова являются скороспелость, крупносемянность и низкорослость.

Н. В. Савина¹, С. В. Кубрак¹, Л. В. Милько¹, В. Н. Тихомиров², М. А. Джус²,
З. Е. Грушецкая², А. И. Пацевич², А. В. Кильчевский¹

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ВОДЯНОГО ОРЕХА (*TRAPA NATANS* L. s.l.) ФЛОРЫ БЕЛАРУСИ ПО МАРКЕРУ *ITS2*

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: N.Savina@igc.by

²Белорусский государственный университет
Республика Беларусь, 220030, г. Минск, пр. Независимости, 4
e-mail: Tikhomirov_V_N@list.ru

Водяной орех плавающий (*Trapa natans* L. s.l.) — представитель семейства Дербенниковые (*Lythraceae*), исторически является одним из первых пищевых растений на территории Беларуси. Водяной орех, широко распространенный в Центральной Европе, в Беларуси встречается преимущественно в юго-восточных регионах в пойме р. Днепр и ее притоков. Изолированные местонахождения известны также в ряде озер на северо-востоке республики. В списке охраняемых растений Беларуси этот вид находится с 1964 г. и в настоящее время имеет III Категорию национальной природоохранной значимости.

Таксон чрезвычайно интересный, рассматриваемый либо как один полиморфный вид, либо разбиваемый на различное число (иногда до нескольких десятков) отдельных видов, которые отличаются главным образом по морфологии плодов. На территории Беларуси исследователями выделялось до 10 видов.

Проведенная ранее оценка морфологической изменчивости плодов видов рода *Trapa* L. флоры Беларуси (неопубл.) позволила выделить на территории республики три морфологически различающиеся группы, предварительно идентифицированные как *Trapa natans* L. s.str. (бассейн Днепра и его притоков), *Trapa hungarica* Opiz (система озер Ромашково–Тиосто) и *Trapa sibirica* Flerow (система озер Волобо–Синьша).

Цель данного исследования — оценить наблюдаемые различия между морфологическими группами рода *Trapa* L. с помощью молекулярных методов. В работе использовали ДНК-штрих-кодирование, в качестве маркера выбран *ITS2*-район рибосомной ДНК. Материалом служили гербарные образцы 8 популяций трех морфологических групп водяного ореха, для выделения ДНК использовали несколько модификаций метода, основанного на использовании ЦТАБ (бромиды цетилтриметиламмония).

Все полученные нами последовательности *ITS2*-района для восьми изучаемых образцов были инвариантны по размеру и имели длину 223 п. н. Используемые в работе праймеры обеспечивают амплификацию межгенного спейсера *ITS2* и фрагменты генов 5.8S и 28S. Множественное выравнивание последовательностей с помощью программы *MEGA 4* не выявило различий между образцами. Консенсусная последовательность на 100% совпадала с аналогичными последовательностями *T. natans* в *NCBI BLAST*. Полученные данные однозначно опровергают представление о реликтовости «микровидов», выделяемых на основании морфологических особенностей строения плодов. Отсутствие генетического полиморфизма по *ITS2* можно рассматривать либо как аргумент в пользу того, что образцы водяного ореха, произрастающего в Беларуси, принадлежат к одному виду, либо как свидетельство того, что они произошли от общего предка за короткий промежуток времени и являются филогенетически близкими родственниками. Для того, чтобы подтвердить или опровергнуть эти предположения, необходимо более детальное изучение данной группы с привлечением таксон-специфичных молекулярных маркеров.

А. Т. Садиков

КОРРЕЛЯЦИОННЫЙ АНАЛИЗ КОМПОНЕНТОВ ПРОДУКТИВНОСТИ РАСТЕНИЙ ХЛОПЧАТНИКА В УСЛОВИЯХ РЕСПУБЛИКИ ТАДЖИКИСТАН

*Институт земледелия Таджикской академии сельскохозяйственных наук
Республика Таджикистан, 735022, г. Гиссар, пос. Шарора, ул. Дусти
e-mail: dat.tj@mail.ru*

Продуктивность любого сорта является результатом функционирования комплекса важнейших эколого-генетических систем, определяющих формирование сложных количественных признаков.

Основным методом оценки целостности различных сортов хлопчатника является изучение корреляционной изменчивости признаков и корреляционной связи между ними. Корреляционная связь — это согласованное изменение двух признаков, отражающее тот факт, что изменчивость одного признака находится в соответствии с изменчивостью другого. В оптимальных условиях среды в коэффициентах корреляции преобладают положительные и достаточно высокие значения. Поэтому цель настоящей работы — провести анализ парных корреляций и путевых коэффициентов по элементам продуктивности растений хлопчатника и на их основе выявить вклад изучаемых признаков в урожайность.

Полевые опыты проводились в период 2019–2021 годов на экспериментальных полях хозяйства «Зироаткор» Института земледелия Таджикской академии сельскохозяйственных наук, расположенных в Центральном Таджикистане (Гиссарский район), высота над уровнем моря — 746 м. Объектом исследования служили 3 гибридные комбинации и их родительские формы средневолокнистого хлопчатника. В качестве стандарта использовали районированный сорт Хисор. В селекционном питомнике посев был проведен по методике ВНИИССХ им. Зайцева Г. С., схема размещения — $60 \times 20 \times 1$, густота стояния растений — 83 тыс./га.

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием стандартных методов Б. А. Доспехов.

По полученным результатам многолетних исследований видно, что по количеству коробочек всех трех гибридов превышают стандартный сорт и их родительских форм хлопчатника Nazilli-84-S x Сорбон от 8,8 шт. до 14,9 шт. В т. ч. в гибридных поколениях F_1 (DPL-4158 x Сорбон), F_3 (NAK-99/1 x Дехкон) соответственно на 11,7–14,9 шт., что значительно (5,7–8,9 шт.) больше, чем у стандартного сорта Хисор.

Корреляционный анализ показал, что между урожаем хлопка-сырца и количеством полноценных коробочек на растения существует положительная взаимосвязь. При этом значение коэффициентов корреляции между урожаем хлопка-сырца и числом коробочек обнаружен у комбинаций — NAK-99/1 x Дехкон и DPL-4158 x Сорбон ($r = 0,887$ и $r = 0,776$).

По весу сырца одной коробочки у гибридных поколений она была в пределах от 5,5 г у гибрида F_2 (Nazilli-84-S x Сорбон) до 6,6 г у гибрида F_3 (NAK-99/1 x Дехкон). По сравнению со стандартным сортом Хисор, вес одной коробочки кроме гибрида F_2 (Nazilli-84-S x Сорбон) (5,5) у остальных гибридов наблюдалось превышение от 1,7 г до 2,5 г. По продуктивности хлопка одного растения видно, что продуктивность растений всех изученных гибридов намного превышает стандартный сорт и их родителей хлопчатника Nazilli-84-S x Сорбон от 48,4 г до 98,3 г. В т. ч. у гибрида F_3 (NAK-99/1 x Дехкон) на 98,3 г, и у гибрида F_1 (DPL-4158 x Сорбон) на 70,2 г, что на 17,7–20,6 г выше, чем у показателя стандартного сорта хлопчатника.

Следовательно, в соответствии с величиной изученных выше признаков и их корреляционными взаимосвязями можно оценивать и отбирать высокопродуктивные формы в сортовых популяциях гибридов F_1 и F_3 .

М. Г. Синявская, В. В. Александрович, Е. А. Мишук, П. В. Пашкевич, О. П. Шатарнов,
Е. А. Аксенова, О. Г. Давыденко

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ГЕНОМОВ ОРГАНЕЛЛ СОИ *GLYCINE MAX L.* (НА ПРИМЕРЕ КОЛЛЕКЦИИ РАННЕСПЕЛЫХ СОРТОВ)

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: cytoplasmic@mail.ru

Хлоропласты и митохондрии — органеллы клетки, имеющие собственные геномы. ДНК органелл кодирует относительно небольшое количество генов, которые необходимы для выполнения жизненно важных внутриклеточных процессов растительной клетки — фотосинтеза и дыхания, процессов взаимодействия ядра и цитоплазмы.

Ранее нами было проведено сравнительное исследование генома пластид и митохондрий у ячменя методом NGS (next generation sequencing). Выявлены точки дифференциации геномов злаков на уровне близкородственных видов и сортов, отмечены наиболее полиморфные локусы. В хлоропластной ДНК обнаружено более 100 локусов изменчивости, в митохондриальной ДНК — более 20. Кластеризация по хп- и мтДНК маркерам одновременно позволила выделить 12 групп плазматипов среди культурного ячменя (*Hordeum vulgare*).

Аналогичное исследование с целью изучения изменчивости геномов хлоропластов и митохондрий нами проведено у сои *Glycine max L.*

Материалом исследования стала тотальная ДНК, выделенная из семян коллекции раннеспелых сортов сои, которые являются материнскими родителями в ряде селекционно успешных новых образцов сои. Проведено NGS (для 24 образцов) с верификацией точек изменчивости по отдельным локусам секвенированием по Сэнгеру. Ряд образцов сои, в том числе и других групп раннеспелости, был изучен по наиболее полиморфным локусам геномов органелл, идентифицированным на основании NGS.

Весь спектр изменчивости по хп- и мтДНК сои был представлен 2 плазматипами хлоропластной ДНК, 5 плазматипами митохондриальной. Комбинация спектров изменчивости обоих органелльных геномов не позволила выделить новые плазматипы.

Обнаружено 8 локусов изменчивости в последовательности хлоропластной ДНК и 19 — в митохондриальной ДНК. Из них только 7 точек полиморфизма (суммарно для двух геномов) были в кодирующей области. Отличий в хлоропластной ДНК было значительно меньше, чем в митохондриальной ДНК, что является несколько неожиданным результатом. Известно, что геномы хлоропластов многих покрытосеменных изменчивы в большей степени по заменам нуклеотидных последовательностей, а геномы митохондрий более изменчивы по структурным перестройкам и более консервативны по последовательностям. В нашем случае получены данные, не укладывающиеся в общую картину изменчивости геномов органелл, сложившуюся на основании множества исследований, проводимых в мире.

Выявлен крайне низкий уровень изменчивости геномов органелл сои в группе раннеспелых сортов.

В данный момент исследование этих форм продолжается с помощью маркирования по ядерным SSR локусам для углубления представлений об их филогенетическом родстве.

Возможно, что отмеченная низкая вариабельность геномов органелл — следствие генетической узости (ограниченности) пула близкородственных форм, из которых была получена исследуемая нами, сравнительно эволюционно молодая, группа раннеспелых сортов сои.

Исследования выполнены благодаря финансовой поддержке в рамках проекта 2.1.3 ГПНИ «Геномика».

Е. В. Смирнова, Т. А. Базанов, Н. Н. Логинова, П. Д. Михайлова

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФНОСТИ СОРТОВ РЫЖИКА ПОСЕВНОГО (*Camelina sativa*) С ПОМОЩЬЮ SSR- И ISSR-МАРКЕРОВ

ФГБНУ «Федеральный научный центр лубяных культур»

Россия, 170041, г. Тверь, Комсомольский пр., 17/56

e-mail: ev.smirnova@fncl.ru

Рыжик посевной (*Camelina sativa*) — перспективная, не требовательная к условиям возделывания масличная культура, благодаря особому составу масла может использоваться в самых разных отраслях промышленности (топливная, пищевая, косметологическая, лакокрасочная и др.).

Успех селекционной работы зависит от исходного материала, его разнообразия и генетической изученности. Изучение полиморфизма ДНК-методами позволит расширить генетическую базу сортов рыжика и создать новые высокопродуктивные сорта различных жизненных форм — озимого и ярового. ISSR- и SSR-маркеры являются наиболее используемым инструментом для молекулярного исследования генетики растений.

В качестве материала для исследований использовались 18 сортов рыжика посевного различного происхождения, включенных в Государственный реестр селекционных достижений Российской Федерации. Озимые сорта: Барон, Козырь, Пензяк (Пенза, Россия); Адамас, Передовик (Саратов, Россия); Адонис (Тверь, Россия); Карат (Краснодар, Россия). Яровые сорта: Велес, Юбиляр (Пенза, Россия); Исилюлец, Омич (Краснодар, Омск, Россия); ВНИИМК-520, Кристалл (Краснодар, Россия); Ужурский, Чулымский (Новосибирск, Россия); Дебют (Саратов, Россия); Екатерининский (Тамбов, Россия), Вилла (Мадрид, Испания).

ДНК выделяли модифицированным СТАВ-методом из листьев восьми индивидуальных растений каждого сорта. Для исследования использовался набор из 8 пар SSR-маркеров и 12 ISSR-маркеров. ПЦР-продукты, полученные при SSR-анализе, были изучены методом фрагментного анализа на генетическом анализаторе НАНОФОР 05. Продукты амплификации с ISSR-маркерами разделяли электрофорезом в 1,7% агарозном геле. Определение размеров аллелей проводили с помощью специальных программ («ДНК-ФА» (СИНТОЛ, Россия), Quantity One («Bio-Rad», США)).

В результате SSR-анализа было определено 40 аллелей размером от 119 до 323 п. н. и обнаружен характерный маркер с длиной аллели 197 п. н. локуса P4C11, четко отделяющий озимые формы культуры от яровых. Полученные данные по SSR-маркерам выявили определенную неоднородность сортового материала. Аналогичный набор сортов был изучен с помощью ISSR-маркеров. Для 10 из 12 ISSR-праймеров установлено наличие полиморфных фрагментов у исследуемых образцов, выявлены сортоспецифичные ампликоны. Полученные данные подтверждают возможность использования этих SSR- и ISSR-маркеров для генетического анализа рыжика посевного.

Дендрограмма генетического подобия, полученная в результате SSR-исследования, показала, что исследованные сорта рыжика распределились по двум кластерам, отражающим две формы жизни культуры — рыжик озимый и рыжик яровой. Внутри двух этих групп можно отметить достаточно характерное распределение, связанное с оригинатором. На основании ISSR-генетической дендрограммы было выявлено характерное распределение на географические группы Среднерусского и Сибирского типа. Данное отличие можно считать основным при сравнении двух примененных типов молекулярных маркеров.

А. В. Соколюк, Н. И. Дубовец

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ХЛОРОПЛАСТНОГО ГЕНОМА ГЕКСАПЛОИДНЫХ ПШЕНИЧНО-РЖАНЫХ ГИБРИДОВ ($\times$ TRITICOSECALE WITTM.)

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220027, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: a.sokolyuk@igc.by

С открытием универсальности феномена геномных дупликаций в эволюции живых систем существенно возрос интерес к исследованию аллополиплоидии, сыгравшей решающую роль в становлении большинства таксонов высших растений. В результате многочисленных исследований, выполненных с применением молекулярных технологий, было установлено, что генезис аллополиплоидных форм сопровождается кардинальными преобразованиями и модификациями ядерного генома, которые на ранних этапах стабилизации гибридной формы обеспечивают ее цитологическую и генетическую диплоидизацию. В то же время для успешного становления вновь образованного аллополиплоида в качестве новой таксономической единицы необходимо преодоление ядерно-цитоплазматического конфликта, который неизбежно возникает вследствие нахождения в чужеродной цитоплазме одного из объединенных в одном ядре родительских геномов. В отличие от преобразований ядерного генома, этот аспект стабилизации аллополиплоидных форм изучен крайне мало. В связи с этим мы поставили перед собой цель на примере пшенично-ржаных гибридов провести полногеномное сопоставление первичной структуры хлоропластной ДНК у амфидиплоида и донора цитоплазмы, что позволит с высокой точностью выявить возможные модификации пластома, произошедшие в процессе коадаптации ядерного и цитоплазматического геномов.

Для достижения этой цели на первом этапе работ было проведено NGS секвенирование хлоропластной ДНК десяти культивируемых в Республике Беларусь сортов тритикале (озимые: Благо, Динамо, Ковчег, Устье, Заречье, Гродно; яровые: Узор, Лана, Матейко, Садко) и выполнена сборка полной последовательности их хпДНК путем выравнивания прочтений на референсный хлоропластный геном *Triticum aestivum* (код доступа GenBank — KJ592713). Общий размер хпДНК всех сортов тритикале после сборки составил 133 873 п. н., что полностью соответствует размеру хлоропластного генома мягкой пшеницы.

В ходе сравнительного анализа полученных нуклеотидных последовательностей хпДНК тритикале выявлен высокий уровень изменчивости пластома пшенично-ржаных гибридов, формирующейся преимущественно за счет делеций и SNP. Большинство найденных полиморфизмов расположено в некодирующих областях хп-геномов, но были обнаружены изменения и в кодирующих районах. Самым полиморфным оказалось семейство генов АТФазы, в котором детектировано 42 нуклеотидных замены, из которых 11 (2 синонимические и 9 несинонимических в гене *atpA*, кодирующем α -субъединицу H^+ АТФазы) являются идентичными для всех исследованных сортов. Примечательно, что у сортов Гродно, Матейко, Лана и Заречье все выявленные замены (по 31) являются идентичными, а сорта Благо и Динамо отличаются от них лишь заменами в позиции 35 619: если первые четыре сорта имеют здесь замену Т-Г, приводящую к замене аминокислот Asp-Lys, то у Благо отмечена синонимическая замена Т-С, а Динамо имеет замену целого триплета нуклеотидов с предполагаемыми двумя заменами аминокислот Asp-Lys и Lys-Leu. Различия между остальными сортами более существенны как в качественном, так и в количественном планах.

Полученные данные создают основу для углубленного изучения особенностей взаимодействия ядра и цитоплазмы у отдаленных гибридов злаков.

Л. В. Сухарева^{1,2}, О. В. Чухина²

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОПРЕПАРАТОВ ПРИ ВОЗДЕЛЫВАНИИ СОРГО САХАРНОГО

¹ВолНЦ РАН

Россия, 160014, г. Вологда, ул. Горького, д. 56а

e-mail: lyubov.suxareva@yandex.ru

²Вологодская ГМХА

Российская Федерация, г. Вологда, с. Молочное, ул. Шмидта, д. 2

e-mail: ochukhina@mail.ru

Опыт по возделыванию сорго сахарного проводился на территории Вологодской области (Российская Федерация) в 2022 г. В работе использовались биопрепараты, созданные компанией ООО «Биотроф» (г. Санкт-Петербург) на основе живых клеток микроорганизмов, за основу препарата «Натурост-Актив» взята культура клеток *Lactobacillus buchneri*, а «Натурост-М» — *Bacillus megaterium*. Объектом исследования было выбрано сорго сахарное сорт Галия.

Мелкоделяночный эксперимент предусматривал следующие варианты: обработка водой (контроль), два варианта с внесением биопрепаратов «Натурост-Актив» и «Натурост-М». Повторность опыта 3-х кратная, площадь учетной делянки 5 м². Перед посевом семена опытных групп инокулировали в рабочих растворах препаратов в концентрации 1 мл препарата на 1 литр воды в течение 2-х часов, семена контрольной группы замачивались в воде. В ходе опыта проводили опрыскивание растений рабочими растворами той же концентрации согласно рекомендациям производителя, в фазу кущения.

Влияние погодных условий могло неоднозначно сказаться на росте и развитии сорго сахарного. В начале фазы прорастания температура опускалась ниже 10 °С, о чем свидетельствует долгое прохождение указанной фазы.

Кустистость контрольного варианта в среднем значении была равна 1 растению. При использовании двух препаратов кущение увеличивалось на 10% относительно контроля. Количество листьев с применением препарата на основе *Lactobacillus buchneri* ниже на 5,6% относительно контроля, а препарат на основе бактерии *Bacillus megaterium* дает увеличение на 12,7%. Образование продуктивного органа наблюдалось в вариантах контроля и варианте с препаратом Натурост-М. Показатель массы органов, в частности стеблей и листьев в варианте с внесением биопрепарата Натурост-Актив значительно ниже контроля на 55,3% и 61% соответственно. В варианте с Натурост-М не идет такое резкое снижение показателя и составляет всего лишь 19,7% и 40%.

Оба препарата дают увеличение кустистости, препарат Натурост-М воздействует на увеличение количества числа листьев и способствует образованию органов продуктивности, но при этом падает показатель массы органов. Некоторый ростостимулирующий эффект препарата Натурост-М вероятно, связан с тем, что при его применении повышается содержание питательных веществ в доступной для растений форме, а также подавляется развитие фитопатогенных микроорганизмов. Так как опыт поставлен недавно, нельзя однозначно сказать о преимуществах или недостатках внесения биопрепаратов. Но применение биопестицидов поможет снизить нагрузку на экосистемы за счет уменьшения доли пестицидов химического происхождения и увеличения коэффициента использования удобрений.

Я. П. Тукусер

ВЛИЯНИЕ СПОСОБОВ ВВЕДЕНИЯ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* НЕОПЫЛЕННЫХ СЕМЯПОЧЕК ОГУРЦА (*CUCUMIS SATIVUS* L.)

ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства»

Россия, Московская обл., Одинцовский городской округ, п. ВНИИССОК, ул. Селекционная, д. 14
e-mail: yana-tukuser@mail.ru

Огурец (*Cucumis sativus* L.) относится к семейству тыквенные (*Cucurbitaceae*), которое объединяет овощные и бахчевые культуры (арбуз, дыню, тыкву и другие). Для успешного ведения селекционного процесса у сельскохозяйственных культур необходимо наличие большого количества константных линий. В связи с редким возникновением естественной гаплоидии у вида *Cucumis sativus* L., необходимо было найти метод, который позволил бы создавать гаплоиды в больших масштабах. Гомозиготные родительские линии могут быть быстро и эффективно получены посредством методов культивирования *in vitro* на основе андрогенеза (культура пыльников или изолированных микроспор), гиногенеза (культура неопыленных завязей или семяпочек), а также спасения партеногенетических зародышей. Для успешного получения гаплоидов и удвоенных гаплоидов в культуре неопыленных семяпочек *in vitro* влияют различные факторы: условия выращивания растений-доноров, стадии развития женского цветка и их предварительная обработка, регуляторы роста и условия культивирования неопыленных семяпочек. Целью данного исследования было изучить влияние способа введения в культуру *in vitro* на индукцию гиногенного развития.

В исследовании использовали селекционные образцы огурца № 290 и № 291 (*Cucumis sativus* L.) из коллекции лаборатории селекции и семеноводства тыквенных культур ФГБНУ ФНЦО. Донорные растения выращивали в условиях вегетационной камеры при 23 °С и фотопериоде 16 ч день / 8 ч ночь, освещенности 9 тыс. люкс. Сбор бутонов и закладку опытов производили с середины августа до середины ноября. Стадию развития женских цветков оценивали морфологически, наблюдая за их развитием. Размер завязи составил 2,0–2,8 см. После этого проводили стерилизацию эксплантов.

Стерильные экспланты очищали от внешней кожицы, затем разрезали скальпелем поперек и продольно на равные части под стереомикроскопом в стерильном ламинарном боксе и сразу же помещали на жидкую индукционную питательную среду В5 (по прописи Gamborg, Eveleigh, 1968) с добавлением 5,5% сахарозы и 0,4 мг/л ТДЗ. Все экспланты огурца с неопыленными семяпочками культивировали в течение 28 суток на качалке со скоростью качания от 25 до 30 об/мин при температуре 26 °С на свету. Наблюдения за изменениями в структуре эксплантов семяпочками огурца проводили через 14 суток под стереомикроскопом.

В результате изучения влияния способа разрезания завязи огурца на индукцию гиногенеза с. о. № 290 и с. о. № 291 (*Cucumis sativus* L.) наибольшее количество индуцированных семяпочек было получено при поперечном разрезе завязи огурца (7–10%). Наиболее отзывчивым генотипом к условиям эксперимента оказался с. о. № 291 — в среднем на чашку Петри было получено 17,3–32,2 семяпочки. Согласно результатам двухфакторного дисперсионного анализа с повторениями, оба фактора (генотип сортообразца огурца (фактор А) и способ разрезания завязи огурца (Б)) оказывали одинаковое влияние на индукцию семяпочек огурца в культуре *in vitro* — 29% и 30%. $HCP_{05} = 11,8$; $HCP_{05}(A) = 8,3$; $HCP_{05}(B) = 8,3$.

Е. А. Фомина, А. Н. Заинчковская, О. Ю. Урбанович

ИЗУЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ ДЕГИДРИНЫ, В КОЛЛЕКЦИИ СОРТОВ ОЗИМОЙ И ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM AESTIVUM* L.)

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: E.Fomina@igc.by

Мягкая пшеница — одна из важнейших зерновых культур в Республике Беларусь. Из зерна пшеницы вырабатывают муку, которая является основными ингредиентами для различных видов хлебобулочных изделий. Посевы пшеницы в нашей стране из-за климатических особенностей часто подвергаются засухе. В устойчивости к засухе зерновых культур большую роль играет вторая группа белков позднего эмбриогенеза или LEA (Late Embryogenesis-Abundant), которые называют также дегидринами. В зависимости от наличия и числа консервативных доменов их разделяют на несколько типов: YSK2, YSK3, Y2SK3, SK3, Kn и KS. Представители каждого из указанных типов принимают участие в формировании ответа растения на засуху. На основании литературных данных были отобраны гены-кандидаты кодирующие дегидрины, вносящие наибольший вклад в формирование ответа мягкой пшеницы на водный дефицит, а именно *DHN2*, *DHN18*, *DHN19* и *DHN20*, относящиеся к SK3-, K2-, K3- и K4-типам соответственно.

В связи с важностью данных генов в ответе растения на засуху, целью проведенного исследования являлось изучение их полиморфизма среди сортов и линий яровой и озимой пшеницы.

Для исследования полиморфизма генов *TaDHN2*, *TaDHN18*, *TaDHN19* и *TaDHN20* на основании литературных данных и проведенных полевых испытаний была создана коллекция, состоящая из 30 сортов яровой и озимой пшеницы белорусской и зарубежной селекции, отличающихся по уровню засухоустойчивости и используемых в селекционном процессе РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию» (г. Жодино). Для анализа полиморфизма указанных выше генов на уровне длины амплифицированных фрагментов были использованы праймеры *TaDHN2F/R*, *TaDHN18F/R*, *TaDHN19F/R*, и *TaDHN20F/R*, разработанные Wang и др. Согласно анализу данных последовательностей, теоретически ожидаемый размер ПЦР продукта с праймерами *TaDHN2F/R* (номер доступа в GenBank U73211) составляет 448 пн, с праймерами *TaDHN18F/R* (номер доступа в GenBank U73212) — 426 пн, с праймерами *TaDHN19F/R* (номер доступа в GenBank AB272228) — 307 пн и с праймерами *TaDHN20F/R* (номер доступа в GenBank KU230444) — 326 пн. С помощью данных праймеров были амплифицированы фрагменты ожидаемой длины для четырех выбранных генов у всех исследуемых образцов.

Таким образом, в ходе проведенного молекулярно-генетического анализа среди исследуемых образцов полиморфизм в указанных локусах на уровне длины амплифицированных фрагментов выявлен не был, что говорит о низком уровне изменчивости генов *TaDHN2*, *TaDHN18*, *TaDHN19* и *TaDHN20* по длине нуклеотидных последовательностей. В связи с этим представляет интерес дальнейшего изучения данных локусов на уровне их экспрессии.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта БРФФИ Б22УЗБ-054.

И. С. Черней, В. Т. Чещевик

ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА И ПРОТИВООКИСЛИТЕЛЬНЫХ СВОЙСТВ ЭФИРНОГО МАСЛА *ARTEMISIA ABSINTHIUM*

Полесский государственный университет
Республика Беларусь, г. Пинск, ул. Днепровской Флотилии, 23
e-mail: semitchko.i@yandex.ru

Актуальность. Исследования последних лет указывают на то, что низкомолекулярные антиоксиданты природного происхождения могут рассматриваться как наиболее перспективные и безопасные защитные агенты, уменьшающие окислительное повреждение клеток и тканей организма человека в случае истощения или неэффективности ферментативных и неферментативных компонентов собственной антиоксидантной системы. Также природные антиоксиданты могут быть хорошей альтернативой синтетическим, широко применяемым в различных отраслях. Эфирные масла представляют собой очень сложные в химическом отношении смеси веществ, биологические свойства которых характеризуются комплексным фармакологическим действием.

Цель. В связи с тем, что *Artemisia absinthium* повсеместно распространена на территории Беларуси и относится к лекарственным растениям, а получаемое эфирное масло полыни усиливает секреторную функцию желудочно-кишечного тракта и улучшает пищеварение при болезнях желудка, представляется значимым изучение эфирного масла, получаемого из сухого сырья, определение его компонентного состава и антиоксидантной активности.

Материалы и методы. Компонентный состав эфирных масел определяли с помощью газового хромато-масс-спектрометра Shimadzu QP2010. Идентификацию компонентов проводили с помощью базы данных Wiley. Антиоксидантную активность эфирного масла исследовали спектрофотометрически с использованием DPPH (1,1-дифенил-2-пикрилгидразил) и ABTS⁺ (2,2-азино-бис (3-этилбензотиазолин-6-сульфоная кислота)) радикал-генерирующей систем. В качестве стандартного антиоксиданта использовали Trolox (0,39–6,3 мкг/мл). Статистическую обработку результатов и вычисление значений IC₅₀ осуществляли с использованием программы статистического анализа GraphPad Prism7.

Результаты. Выход эфирного масла, полученного из сухого растительного сырья методом гидроdistилляции с использованием аппарата Клевенджера, составил $0,45 \pm 0,04\%$. Основными компонентами эфирного масла полыни горькой, произрастающей в климатогеографических условиях Беларуси, являются β -гуйон (24,43%), α -гуйон (19,76%), геранил пропионат (16,21%), 2,4-гуйондинен (13,16%), линалил изовалерат (5,46%).

Общая антиоксидантная способность эфирного масла полыни была значительно ($P < 0,05$) ниже, чем у эталонного соединения Тролокс, в отношении DPPH радикала. Антиоксидантная активность эфирного масла *A. absinthium* характеризовалась IC₅₀ в отношении DPPH радикала равным $0,98 \pm 0,14$ мг/мл, тогда как для Тролокса IC₅₀ составляла $0,003 \pm 0,027$ мг/мл.

При исследовании антиоксидантной активности эфирного масла полыни горькой в отношении ABTS⁺ радикалов IC₅₀ составило $0,189 \pm 0,16$ мг/мл. Но также, как и в случае с антиоксидантной активностью в отношении к DPPH радикалу, эффективность антиоксидантной активности эфирного масла полыни горькой в отношении ABTS⁺ радикала была ниже по сравнению с Тролокс (IC₅₀ $0,001 \pm 0,012$ мг/мл).

Таким образом, эфирное масло *A. absinthium* обладает антиоксидантной активностью, но в меньшей степени, чем стандартный антиоксидант Тролокс. Это может быть обусловлено антиоксидантным действием минорных компонентов эфирного масла полыни горькой. В то же время антиоксидантная активность эфирного масла полыни горькой более высокая по отношению к ABTS⁺ радикалу, чем к радикалу DPPH.

Н. Г. Черткова

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГИБРИДНЫХ ФОРМ РИСА С ГЕНАМИ УСТОЙЧИВОСТИ К ДЛИТЕЛЬНОМУ ЗАТОПЛЕНИЮ

Южный Федеральный Университет,
Академия биологии и биотехнологии им. Д. И. Ивановского
Россия, 344090, г. Ростов-на-Дону, просп. Стачки 194/1
e-mail: tycik17082012@gmail.com

Рис — одна из важнейших сельскохозяйственных культур, источник пищи для большинства людей на нашей планете. В последнее время прямой посев риса становится все более популярным из-за низкой себестоимости и простоты в реализации. Недостатком прямого посева являются сорные растения, а также плохое укоренение семян, которое вызывает ежегодные потери урожая. Кроме того, наблюдаются нашествия вредителей, таких как улитки, птицы и мыши, а также отсутствие всходов семян из-за наводнений, вызванных неровными полями или проливными дождями. Существуют способы преодоления этих проблем, например, затопление рисовых чеков до определенного уровня сразу после посева. Этот способ не подразумевает использование гербицидов. Однако многие современные сорта риса не обладают способностью давать всходы в условиях затопления. Это связано с высокой чувствительностью растений к анаэробным условиям во время прорастания. Таким образом, селекция на затопление риса позволяет решить эти проблемы и ставит перед селекционерами задачу выведение сортов, устойчивых к глубоководному затоплению во время прорастания семян. У некоторых сортов риса в генотипах локализованы гены *Sub1* и *Snorkel*, которые ассоциированы с устойчивостью растений к длительному затоплению. Лocus *Sub1*, локализованный в 9-ой хромосоме, включает три гена: *Sub1A*, *Sub1B*, *Sub1C*, а locus *Snorkel* — в 12-ой хромосоме и включает два гена: *SK1* и *SK2*.

Целью исследования является идентификация в гибридных образцах риса генов *Sub1A*, *SK1* и *SK2*, ассоциированных с устойчивостью риса к длительному затоплению. Гибридизацию проводили ранее между азиатскими линиями, носителями генов устойчивости к затоплению (Inbara-3, BR-11, KhaoHlanOn, R6 (Kharsu 80A), R5 (KhaoHlanOn)) и российскими сортами (Новатор, Кубояр, Контакт). Из популяций растений F_5 – F_9 поколений были отобраны 35 скороспелых образцов с высокими показателями селекционно-ценных признаков, которые были проанализированы с помощью SSR-анализа на наличие интродуцируемых генов *Sub1*, *SK1* и *SK2*. ДНК из молодых листьев растений выделяли с помощью детергента CTAB. Амплификацию проводили в термоциклере Rotor-Gene 6 000. Графики кривых плавления SSR-маркеров *Sub1A*, *SK1* и *SK2* анализировали с помощью программы Series Software 1.8. В результате анализа гибридных образцов риса было обнаружено, что только 7 образцов содержат ген *Sub1A* и 17 — ген *SK2*. Ген *SK1* в проанализированных гибридных комбинациях не обнаружен. После подтверждения полевых испытаний устойчивости к длительному затоплению 24-х гибридных образцов, носителей генов *Sub1A* и *SK2*, их можно использовать в производственных посевах.

В. Чобану, А. Сердешнюк**ИНТЕНСИВНОСТЬ ВЫБРАСЫВАНИЯ ПЫЛЬНИКОВ У СТЕРИЛЬНЫХ РАСТЕНИЙ МАТЕРИНСКИХ ФОРМ ГИБРИДОВ КУКУРУЗЫ**

*Институт растениеводства «Порумбень»
Республика Молдова, Криуленский район, с. Пашкань
e-mail: valceban@yahoo.com*

В процессе перевода семеноводства формул перспективных гибридов кукурузы на стерильную основу нередко случаи, когда в процессе беккроссирования и селекции закрепителя стерильности не удастся достичь высокой стерильности метелок у стерильного аналога линии или у материнской формы гибридов, являющейся комбинацией из двух и более линий. Как показал опыт работ в этом направлении, чаще всего удается переводить семеноводство гибрида на М тип стерильности, но и в данном случае иногда приходится использовать компромиссный вариант стерильного аналога, которому присущ определенный уровень интенсивности выбрасывания пыльников. В настоящем исследовании в качестве биологического материала использованы а) стерильные аналоги линий с М и С типами стерильной цитоплазмы различного уровня насыщения и б) гибридные комбинации, в которых один из родителей мужски стерильный со стерильной цитоплазмой.

В целях изучения возможности участия пыльцевых зерен, выбрасываемых такими генотипами в процессе опыления, 5 генотипов гибридного происхождения были высеяны изолированно в посеве подсолнечника на расстоянии не менее 200 метров друг от друга. В течение вегетации растений на каждом участке с интервалом в один день вели учет количества растений с цветущим початком и степени фертильности метелок. В конце вегетации убирали все початки, а после обмолота определяли вес урожая. На второй год из каждой партии семян высевали не менее 600 семян. Во время цветения растений вели учет типичных растений и определяли степень фертильности метелок как в группе типичных, так и в группе нетипичных растений.

В большинстве случаев метелки стерильных генотипов с М цитоплазмой выбрасывают небольшое количество пыльников, из которых в очень редких случаях наблюдается выбрасывание небольшого количества пыльцы.

Высокий уровень стерильности метелок и довольно-таки высокий уровень фертильности пыльцы обнаружен только среди гетерозиготных генотипов с М цитоплазмой. Предполагаем, что фертильность пыльцевых зерен в данных случаях обусловлена гетерозиготностью аллелей гена *Rf* в генотипе. Такие генотипы по качеству пыльцы следует классифицировать как генотипы с частично восстановленной фертильностью пыльцы, несмотря на то, что их растения, имеют высокую степень стерильности метелки. Таким образом, стерильность метелок и качество пыльцы — это два признака, которые следует учитывать в селекции, прежде всего гетерозиготных стерильных генотипов с М цитоплазмой, поскольку оба признака обусловлены различными генетическими системами.

В пыльниках генотипов С цитоплазмой с низкой интенсивностью выбрасывания пыльников обнаружили только фертильные пыльцевые зерна или оба класса пыльцевых зерен в соотношениях близкие к 1:1, 1:3 и 3:1. Такие генотипы фактически следует классифицировать как генотипы с частично или полностью восстановленной фертильностью пыльцы.

Пыльца частично восстановленных гетерозигот с М и С стерильной цитоплазмой является функциональной для формирования зигот. Об этом свидетельствует довольно-таки высокий уровень типичности растений во втором поколении, более 71%.

Гетерозиготные генотипы даже с частичным восстановлением фертильности пыльцы не приемлемы для использования в семеноводстве гибридной кукурузы.

Е. К. Шематорова, Г. В. Шпаковский

ЭВОЛЮЦИОННЫЕ ТРАЕКТОРИИ ДВУХ ПУТЕЙ СТЕРОИДНОЙ ГОРМОНАЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»

Россия, 123182, г. Москва, площадь Академика Курчатова, д. 1

e-mail: yushpak57@mail.ru

Первичные производные стероидов — стерины — являются одними из древнейших биорегуляторов на нашей планете. Хотя их синтез уже документирован по крайней мере для двух видов бактерий, выработка стерина не является существенной для Eubacteria. В то же время стерины присутствуют у всех эукариот, где они жизненно необходимы и участвуют не только в организации мембран, но также во внутри- и в межклеточной передаче сигналов. В мембранах стерины влияют на текучесть и проницаемость и являются основными участниками формирования липидных рафтов, которые представляют собой области пониженной текучести, образованные тесной ассоциацией стерина со сфинголипидами. Мембранные белки, участвующие в передаче сигналов клеткам, могут быть связаны посредством их селективного включения в липидные рафты. Ископаемые стераны, обнаруженные в отложениях, используются в качестве биомаркеров прошлой эукариотической жизни.

Хотя стероидные регуляторные (гормональные) системы лучше всего изучены у животных, пальма первенства в разнообразии и в использовании соединений этого класса по праву принадлежит растениям. Действительно, путь биосинтеза стерина появился после появления кислородного фотосинтеза и насыщения кислородом атмосферы и океанов, это произошло между 2,7 и 2,4 млрд лет назад. Несмотря на то, что последний общий предок эукариот LECA (the last eukaryotic common ancestor) уже обладал большой группой ферментов для биосинтеза стерина, только у высших растений сохранились производные стерина от представителей всех трех основных стеранов: холестерана, эргостана и стигмастана. Возможно, именно это способствовало тому, что в настоящее время только в растениях имеются две различные стероидные гормональные системы: своя, уникальная brassinosteroidная [Nature, 1979, 281: 216–217], и имеющая определенное сходство с «животной» (половые гормоны у Animalia), но развивавшаяся параллельно ей своим, особым путем, прогестероновая [BMC Plant Biology, 2017, 17 (Suppl. 1): 189].

Гормоны первой из этих систем, brassinosteroids, ведут свое происхождение от стероида эргостанового ряда кампестерина, в них сохранена разветвленная алифатическая боковая цепь при атоме C-17 стероидного ядра. В то же время во второй, прогестероновой, системе, ведущей свое начало от холестерина (у животных) и, помимо него, от производных стигмастана β -ситостерина и стигмастерина (у растений), боковая цепь безвозвратно отщепляется, в результате чего все действующие (гормонально активные) соединения являются производными C₂₁-стероида прегненолона.

Нами с помощью биоинформационного и филогенетического подходов сделана попытка определить примерное время появления каждой из этих систем и в сравнительном аспекте проследить их последующую эволюцию у Plantae и Animalia. Проведено также детальное сравнение рецепторов и возможных сигнальных каскадов всех трех упомянутых выше систем. Отдельно обсуждаются параллелизм действия и антагонизм brassinosteroidной и прогестероновой систем гормональной регуляции у высших растений.

В. Е. Шимко¹, И. С. Гордей¹, О. С. Матиевская¹, Э. П. Урбан², С. И. Гордей²,
Д. Ю. Артюх²

ИССЛЕДОВАНИЕ САМОФЕРТИЛЬНЫХ ЛИНИЙ КАК НОВЫХ ИСТОЧНИКОВ ЦЕННЫХ ПРИЗНАКОВ ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ ГИБРИДНЫХ СОРТОВ РЖИ (*SECALE CEREALE* L.)

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: Shymko@mail.ru

²РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию»
Республика Беларусь, 222164, г. Жодино, ул. Тимирязева, 1

Перед современной отечественной селекцией озимой ржи стоит задача создать сорта, отвечающие высоким требованиям потребительского рынка. Озимая рожь, благодаря высокой зимостойкости и засухоустойчивости, способности обеспечивать высокую продуктивность на низкоплодородных землях, является культурой высокого потенциала для с.-х. производства. Для создания новых высокопродуктивных сортов необходимо выделить новые источники ценных признаков для важнейших направлений селекции ржи. Одной из задач в селекции гибридной ржи является подбор родительских компонентов по восстанавливающей и закрепляющей способности.

В наших исследованиях проводили исследование самофертильных (СФ) линий озимой ржи для выявления эффективных источников с генами-восстановителями фертильности и G-/P-типа цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС). Селекционно-генетическую оценку проводили по таким признакам, как высота растений (см), продуктивная кустистость (ст./раст.), озерненность колоса (%), масса зерна с колоса (г) и масса 1 000 зерен (г). Высота растений варьировала от 65 до 133 см, продуктивная кустистость — от 5 до 12 ст./раст., озерненность колоса — от 34 до 84%, масса зерен с колоса — от 0,5 до 1,6 г, масса 1 000 зерен — от 14,7 до 32,3 г. Целенаправленный отбор исходных СФ-линий озимой ржи по хозяйственно-полезным признакам позволил использовать их в качестве компонентов скрещивания для получения гибридов F₁.

При скрещивании мужски стерильных (МС) форм на основе ЦМС Р-типа и 16 СФ-линиями выделено 5 гибридов F₁ с озерненностью 55–71%, а при скрещивании МС-форм на основе ЦМС G-типа и СФ-линиями — 9 гибридов с озерненностью 50–75%. Достоверных различий по массе 1 000 зерен между полученными гибридами на основе Р- и G- типов ЦМС не выявлено. Выделены самофертильные линии (70, 89, 469/8, 210, 94), показавшие наилучшую совместимость с источниками ЦМС G- и Р-типов.

Результаты исследования позволяют использовать выделенные СФ-линии как в качестве компонентов скрещивания для получения гибридов F₁, так и в поиске генов-восстановителей фертильности и закрепления стерильности для G-/P-типа ЦМС.

А. М. Шишлова-Соколовская, Е. П. Хмилевская, О. Ю. Урбанович

CRISPR/CAS9-ОПОСРЕДОВАННЫЙ НАПРАВЛЕННЫЙ МУТАГЕНЕЗ В ГЕНОМЕ *NICOTIANA TABACUM*

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: s_anastasia78@mail.ru

В настоящее время система CRISPR/Cas9 (clustered regulatory interspaced short palindromic repeats) является одним из мощнейших, наиболее эффективных, простых и универсальных в использовании инструментов для редактирования геномов растений. Редактирование генома посредством CRISPR/Cas9 системы используется для индуцирования точных делеций, инсерций, замен нуклеотидов и других геномных изменений в клетках. В наших исследованиях мы применили CRISPR/Cas9 систему для опосредованного направленного мутагенеза гена *PDS Nicotiana tabacum* cv. *Petit Havana SR1*, кодирующего фермент 15-цис-фитоендесатуразу. Изменения в работе данного фермента приводят к нарушению биосинтеза хлорофилла, каротиноидов и гиббереллинов в результате чего у растений проявляется фенотип альбинизма и карликовости. С помощью методов молекулярно-генетического клонирования была создана векторная конструкция *pRGEB31 + gRNA5-pds*, несущая в своем составе гидовую РНК, комплементарную кодирующей последовательности 5 экзона гена *NtPDS*. Используя различные биоинформатические платформы, было показано, что выбранная нами для работы последовательность гидовой РНК является высоко специфичной (с минимальными off-target эффектами и оптимальным содержанием GC пар — 40–55%) к выбранной протоспейсерной последовательности гена-мишени *NtPDS* и с проксимально расположенной последовательностью PAM (5'-NGG-3'). Для получения трансгенных/редактированных растений табака мы использовали систему стабильной экспрессии целевых последовательностей на основе Т-ДНК *Agrobacterium tumefaciens*. Плазмиду *pRGEB31 + gRNA5-pds*, содержащую ген нуклеазы Cas9 и гидовую РНК, вводили в *A. tumefaciens* штаммы LBA4404, EHА105 методом трехродительского скрещивания для дальнейшей трансформации листовых дисков табака. В результате трансформации был инициирован процесс непрямого морфогенеза и получены трансформанты, имеющие фенотип альбиносов и химерных альбиносов. Анализ направленного мутагенеза посредством CRISPR/Cas9 системы в геноме табака выявил различные вариации редактирования, а именно: инсерция аденина в –3 положении относительно PAM и делеции от 11 до 34 п. о. Предварительно методом ПЦР в полученных трансгенных/редактированных линиях было подтверждено наличие регуляторных элементов (*Oryza sativa* U3 промотора и 35S конститутивный промотор из вируса мозаики цветной капусты) векторной конструкции *pRGEB31 + gRNA5-pds*. При анализе данных, полученных методом секвенирования по Сэнгеру, было продемонстрировано, что направленный мутагенез генома табака с использованием управляемого инструмента CRISPR/Cas9 системы гидовой РНК приводит к различным мутациям инсерционно-делеционного типа в целевом сайте 5 экзона гена мишени *PDS Nicotiana tabacum* сорта *Petit Havana SR1* с частотой 51,0–80,0% в T_0 поколении, при этом частота направленного мутагенеза при использовании векторной генетической конструкции *pRGEB31 + gRNA5-pds* составляет 33,33%. Мутации, индуцированные системой CRISPR/Cas9 с помощью созданной нами векторной конструкции *pRGEB31 + gRNA5-pds*, оказались высокоэффективными и специфичными при редактировании генома табака, доказательством чего является и их фенотипическое проявление — альбинизм.

К. К. Яцевич, Е. В. Дрозд, Н. А. Некрашевич, Н. В. Анисимова, О. Г. Бабак,
А. В. Кильчевский

НОВЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА *GOLDEN 2-LIKE (GLK)*, ДЕТЕРМИНИРУЮЩЕГО СИНТЕЗ И РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПИГМЕНТОВ В ПЛОДАХ ТОМАТА

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: babak_olga@mail.ru

На накопление пигментов в растениях, наряду со структурными генами, оказывают влияние регуляторные гены, определяющие уровень накопления, а также распределения их в различных частях растений. Одним из таких является ген *MYB* транскрипционного фактора *Golden 2-like (GLK)*. Ранее в литературе (Powell, 2012) были описаны два аллеля данного гена у томата, связанных с различными фенотипами. Первый фенотип нормального аллеля (*U*) обеспечивает высокое накопление хлорофиллов и каротиноидов в плодах, особенно у плодоножки плода, образуя так называемые ярко выраженные «плечи». Данное неравномерное распределение пигментов часто приводит к растрескиванию плодов, что отрицательно влияет на их качество. Однонуклеотидная инсерция аденина (A) в экзонной части гена *GLK* тесно связана с другим известным фенотипом — *uniform ripening (u)*. Плод на стадии технической спелости имеет равномерную бледно-зеленую окраску и низкое накопление каротиноидов при созревании. Данная мутация приводит к сдвигу рамки считывания и образованию нефункционального белка. Нами разработан SCAR маркер *u-7A* позволяющий дифференцировать формы томата по наличию в них аллеля *u*. Фенотипическая оценка широкой коллекции форм томата по признаку накопления и распределения пигментов на стадии технической спелости выявила новые фенотипы, отличные от двух вышеописанных. В связи с чем целью нашей работы был поиск нового полиморфизма гена *GLK*. На основе секвенирования форм томата с различным характером распределения пигментов в плодах выявлен новый полиморфизм гена *GLK* по сравнению с нормальным аллелем *U* — 4 SNP (1 в экзонной и 3 в интронной области), 2 однонуклеотидные вставки (в интронной области), делеция размером 52 п. о., затрагивающая область конца второго экзона—начала второго интрона. По результатам секвенирования РНК различных аллелей гена *GLK* показано, что у нового найденного аллеля происходит нарушение сплайсинга и выпадение второго экзона, что приводит к синтезу усеченной белковой последовательности. Новый аллель назван нами *U-del52*. Разработан SCAR маркер (*U-del52*) для его выявления. Для изучения фенотипического проявления аллеля *U-del52* и эффективности разработанного маркера проведено ДНК-типирование 157 образцов популяции F_2 гибрида Индиго (*U*, *Ant1*) × Дачный (аллель *U-del52*, *ant1*) с помощью маркера *U-del52*. В результате сопоставления данных молекулярного маркирования и фенотипа изучаемых форм установлено, что плоды форм с гомозиготным аллелем *U-del52* имели на стадии технической спелости светло-зеленые плоды со слабым увеличением концентрации хлорофилла у плодоножки. Наличие аллеля *Anthocyanin 1 (Ant1)* у родительской формы Индиго позволило также оценить в расщепляющейся популяции характер накопления антоцианов в плодах в зависимости от комбинации аллелей *U* и *U-del52* гена *GLK* и аллеля *Ant1*. Так, была установлена более высокая концентрация антоциана у плодоножки у форм с сочетанием аллелей *U* и *Ant1* и равномерное распределение по поверхности плода у образцов с аллелями *U-del52* и *Ant1*.

Таким образом, в результате исследований найден новый аллель гена транскрипционного фактора *Golden 2-like*, а также показана связь данного гена с характером распределения антоцианов в плодах. Полученные результаты позволяют расширить понимание генетических закономерностей накопления пигментов в плодах томата.

P. Borozan, S. Musteața, A. Spînu, V. Spînu, M. Statnic

GENETIC IMPROVEMENT OF EARLY MAIZE IN MOLDOVA

*Institute of Crop Science "Porumbeni"
Republic of Moldova, 4834, r. Criuleni, c. Pașcani
e-mail: pantelimon.borozan@yahoo.com*

The programme of maize inbred lines and hybrids development from maturity groups FAO 150–300 has been realized in institute since 1976. In 1981–1990 a large genetic diversity of starting sources for inbreeding was used and in the pedigree of experimental inbred lines persisted germplasm of heterotic groups Dent mixt (foreign hybrids) — 25%, Euroflint — 24%, BSSS-B14 — 18%, Dent Canadian — 14% and Lancaster — 6%. Germplasm of Iodent, Minnesota 13, Northwestern Dent, Reid Wilson, BSSS-B37 and Vigor totalized 13% with 2–3% in genome of original lines. At present the new experimental lines have been developed with germplasm of Iodent — 43%, Euroflint mixt — 34%, BSSS-B37 — 13%, Lancaster — 6% and Dent mixt — 3%. Foreign hybrids were limited to a small amount for inbreeding because it was difficult to find partners causing higher heterosis in testcrosses. Breeding material from Lancaster, related to progenitors of Mo 17 type in background, was susceptible under heat and soil drought. Improvement of BSSS-B37 germplasm, more adapted to drought, is directed to selection of progenies with perfect flowering-silking coincidence, absence of pale green plants, non rolled leaves and a longer axis of tassels. Comparison of the first original lines with the modern forms shows an essential genetic progress of precocity, tolerance to heat and drought, grain yield, ear dry down rate, kernel texture and stalk lodging. Slower improvement was observed in general combining ability of flint germplasm. An essential change in inbred lines breeding was the usage of planned starting F_2 populations of related crosses between late elite inbreds and early versions from the same heterotic group. Modern inbred lines differed from their latest progenitors by 4–8 days of flowering period. More attention was given to grain yield, saleable fractions of seeds, faster ear dry down rate and longer staying green plants for female parents. The main result of this programme is the selection of 36 inbred lines used as parents of registered maize hybrids FAO 160–300. The female parents from Iodent, BSSS-B37 heterotic groups are converted to cytoplasmic male sterility of M (S) type and for Euroflint, Lancaster germplasm predominantly the C type is used. In backcrossing incorporation of dominant alleles Rf for pollen fertility restoration the parents are involved. A competitive breeding programme of hybrid development for northern areas started in 1982 in collaboration with the Research Institute from Jodino (Belarus), including 7–9 ecological locations for testing. The first early (FAO 210) hybrids Bemo 181CRf and Bemo 182CRf were soon registered for grain and silage utilization in Belarus, Russia, Kazakhstan and other states of former Soviet Union. Very popular in northern regions was the double cross hybrid Bemo 182CRf cultivated for more than two decades with 1,5 mln hectares in some years. In 2000–2008 the institute exported annually in Belarus 16,1–54,8 tones of foundation (parent) seeds required to grow commercial seeds of Bemo 172CRf, Bemo 182CRf and Nemo 216CRf in southern regions. A fundamental modification of breeding strategy was replaced by double cross type of hybrids with single crosses and single modified crosses. In the last ten years were registered 13 hybrids with maturity index FAO 160–310, including 7 single, 3 single modified and 3 three-way cross types. For export of certified seeds in Belarus are used registered hybrids Bemo 172CRf, Porumbeni 176MRf, Bemo 203, Porumbeni 220, Porumbeni 221, Porumbeni 230, Bemo 235, Porumbeni 243 and Farmec. In Moldova are registered single cross hybrids (FAO 300–320) Porumbeni 305, Porumbeni 310 and Alimentar 325. Porumbeni 310 is also registered in Romania, Ukraina, and Porumbeni 176MRf, Bemo 235 are registered in Kazakhstan. Production of the commercial hybrid seeds is passed to the private company "Forever" on the basis of an exclusive licence and the export to Belarus is about three thousand tones of seeds.

D. N. Jamalova

MICROCLONAL REPRODUCTION OF RARE AND ENDANGERED SPECIES OF THE GENUS *FERULA* L. IN UZBEKISTAN*Institute of Botany, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan**Tashkent, 100125 Uzbekistan**e-mail: dilafruz.jamalova.91@mail.ru*

This thesis discusses the protocols of clonal micropropagation using growth regulators at different stages of morphogenesis. The information on the induction of callusogenesis, organogenesis and embryogenesis in some species of the *Ferula* L. genus is represented, and optimal concentrations of exogenous auxins and cytokinins, contributing to these processes, are indicated. This review can be used to develop a protocol for micropropagation of economically valuable, medicinal and often endangered species of the genus *Ferula* L.

The Institute of Botany of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan is conducting research on the development of a protocol for microclonal reproduction of two valuable medical species of the genus *Ferula* L. (Apiaceae Lindl.): *F. tadshikorum* Pimenov and *F. sumbul* (Kauffm.) Hook. f. within the framework of the A-FA-2021-146 project "Creation of technology for the organization and reproduction of medicinal plants by in vitro method" with a implementation period of 2021–2024.

A number of studies describe the features of regeneration and morphogenesis of representatives of the genus *Ferula*. The first *in vitro* regeneration system was developed by Bernard et al. in 2007 for *F. gummosa*. Seeds, seedlings (cotyledons, hypocotyl, root), mature embryos, etc. are often used as primary explants for species of the genus *Ferula* (Bernard et al., 2007; Hassani et al., 2008; Zare et al., 2010; Roozbeh et al., 2011; Otroshy et al., 2013; Sharma et al., 2015; Tuncer et al., 2017). At the stage of the actual reproduction of species of the genus *Ferula*, media according to the Murashige and Skoog (MS), as well as Gamborg and Eveleg (B5) are used. At the same time, regeneration processes can occur in two ways: through direct or indirect somatic embryogenesis.

However, for the *F. tadshikorum* and *F. sumbul* species growing in Uzbekistan, these technologies have not been developed, and the ways of morphogenesis in *in vitro* culture have not been identified, which is a fundamental component of the work aimed at reproducing and preserving the germplasm of rare and endemic species.

During the optimization of the protocol of cultivation and obtaining regenerants from cells of isolated tissues of organs of *Ferula* species under sterile conditions, it was revealed that the highest percentage of callusogenesis was found in root explants than from hypocotyls and cotyledon segments, however, hypocotyl is the best explant for embryogenesis. Low concentrations of growth regulators prevent callus formation and, conversely, induce direct somatic embryogenesis. As already mentioned, embryogenesis (direct and indirect) occurred at low concentrations of 2,4-D and kinetin.

S. A. Usmanov, K. O. Khudarganov, M. M. Abdullaeva

CHARACTERISTICS OF FAMILY LONG STAPLE COTTON G.BARBADENSE L.

*Cotton Breeding, Seed Production and Agrotechnologies Research Institute
Uzbekistan, 111218, Tashkent region, Kibray district, p / o Salar
E-mail: sergeyusm@mail.ru*

Long staple cotton has a high economic profitability of cultivation. Growing long staple cotton is much more profitable than medium staple cotton. The soil and climatic conditions of the Tashkent region differ significantly from the conditions of the Surkhandarya region, where long staple cotton was traditionally grown. The creation of new breeding materials characterized by precocity allows expanding the area of cultivation of this type of cotton into almost the entirety of the Republic of Uzbekistan. We studied agronomic valuable traits, under the conditions of the Tashkent region, in a group of families and lines of long staple cotton, which are used as donors of fiber output, by raw cotton weight of one boll. This is one of the most important attributes preventing the increase of the cultivated area of this crop.

The average values of the raw cotton weight of one boll as a whole for the bush amounted to 3,9–4,5 g. The genetic groups F_7 (F_3 O-69 x O-71) x Surkhan-16 and L-4/1 are distinguished with the highest mass of raw cotton weight of one boll. Most genetic groups have a wide range of variability of this trait, within 3,4–5,6g. It should be noted, that while working with these groups, we tried to preserve the heterogeneity of the population in order to obtain the widest range of variability in hybrid populations when using these groups.

In terms of fiber output, the lowest average values were observed in genetic groups F_7 (F_3 O-69 x O-71) x Surkhan-16 and L-4/1 35,1–36,2%. Average values of the fiber output indicators were noted for F_5 [F_4 (F_8 (F_1 L-817 x 010972) x L-817) x Surkhan-16)] x ST-175, F_5 L-4/1 x ST-175, F_7 Surkhan-16 x L-4/1, and the highest rates were characterized by F_5 L-3150 x ST-175, F_7 (F_3 O-69 x O-71) x ST-175, L-3150, F_9 (F_1 L-817 x 010972) x L-817) x Surkhon-16 and F_5 (F_6 O-88 x ST-175) x (F_5 O-2231 x Surkhan-16). The variability of this trait was 33,3–42,5%, which makes it possible to obtain a wide range of plants with different indicators of traits during hybridization.

The average weight of 1 000 seeds in the studied genetic groups was 121–137 g, which is the most optimal for long staple cotton. The variability of this trait in the presented genetic groups was 110–153 g. This trait positively correlates with the raw cotton weight of one boll and negatively with the fiber output. The length of the fiber is one of the main traits characterizing the quality of the fiber. In the studied genetic groups, the average values of this trait for a cotton bush were 39,1–42,2 mm. The range of fiber length variability was 38,0–44,4 mm. The highest average fiber lengths were observed in genetic groups F_5 L-4/1 x CT-175, F_7 (F_3 O-69 x O-71) x Surkhan-16, F_7 (F_3 O-69 x O-71) x CT-175, F_9 (F_1 L-817 x 010972) x L-817) x Surkhon-16, i.e. in hybrid combinations with the participation of the Surkhan-16 variety and the ST-175 line with 1a fiber type.

The results of the research showed that the studied genetic groups are characterized by rather high rates of raw cotton weight of one boll, fiber output and length. An analysis of the population of the studied genetic groups suggests that the use of these genetic groups will make it possible to obtain breeding material with high rates of raw cotton weight of one boll and fiber output.

ГЕНЕТИКА, БИОТЕХНОЛОГИЯ И СЕЛЕКЦИЯ ЖИВОТНЫХ

С. С. Баротов, Ш. Д. Саидмурадов, Ф. Ю. Насырова

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ВИДОВОГО СОСТАВА МЯСА В КОЛБАСНЫХ ИЗДЕЛИЯХ

*Институт ботаники, физиологии и генетики растений НАН Таджикистана
Республика Таджикистан, 734017, г. Душанбе, ул. Каримова 27
e-mail: shavkat_said777@mail.ru*

Идентификация сырья и продуктов животного происхождения является важным элементом в системе государственного контроля. Актуальное значение при этом имеют такие показатели, как определение видовой принадлежности мяса, определение видового состава мясных продуктов и различных примесей.

Тенденция роста числа мясоперерабатывающих предприятий в Таджикистане может привести к ослаблению контроля качества и безопасности мясной продукции.

Применение метода ПЦР при анализе мясной продукции имеет ряд преимуществ, таких как быстрота и легкость использования; высокие показатели специфичности, которые обусловлены тем, что в исследуемом образце выявляется уникальный, характерный только для данного вида сельскохозяйственных животных или растений фрагмент ДНК, что исключает возможность получения ложных результатов; возможность применения метода как для качественной, так и для количественной оценки содержания того или иного ингредиента.

В данном исследовании было проанализировано методом ПЦР в режиме реального времени колбасное изделие компании «POKIZA» приобретенное на столичном рынке г. Душанбе. Целью исследования являлось определение видового состава (говядина, свинина, птица) используемого мяса для приготовления данного вида колбасы. «POKIZA» — это продукция Халяль. Этим словом в исламе принято обозначать, разрешенные с точки зрения религии, к употреблению продукты питания.

Исследования проводились согласно стандарту SN/T 2051–2008.

Как показали исследования, данный метод, основанный на применении ПЦР в реальном времени, высоко эффективен и применим для целей видовой идентификации.

В частности, в анализируемых образцах колбасных изделий были идентифицированы образцы свинины и говядины, но на упаковке этих изделия не было отмечено, что в составе имеется сырье из свинины.

Для Таджикистана эта проблема актуальная и потребитель должен располагать достоверной информацией о составе и содержании в продукции сырья и дополнительных ингредиентов и, соответственно, решать самому, покупать эту продукцию или нет.

Е. В. Белая¹, И. С. Бейшова², А. С. Бабенко³, А. М. Ковальчук²

ПОЛНОГЕНОМНЫЙ ПОИСК АССОЦИАЦИЙ С ФЕНОТИПИЧЕСКИМИ ЭФФЕКТАМИ У КАЗАХСКОЙ БЕЛОГОЛОВОЙ И АУЛИЕКОЛЬСКОЙ ПОРОД

¹Белорусский государственный педагогический университет имени Максима Танка Республика Беларусь, 220030, г. Минск, ул. Советская, 18
e-mail: Belaya005@rambler.ru

²Западно-Казахстанский аграрно-технический университет имени Жангир хана Республика Казахстан, 09009, г. Уральск, ул. Жангир хана, 51
e-mail: indira_bei@mail.ru

³Белорусский государственный медицинский университет Республика Беларусь, 220116, г. Минск, пр. Дзержинского, 83
e-mail: labmdbt@gmail.com

В последнее десятилетие, благодаря успехам молекулярной генетики и секвенирования ДНК крупного рогатого скота, были созданы SNP-чипы, позволяющие одновременно генотипировать животных по огромному количеству SNP-маркеров (50–700 тысяч). Полногеномное секвенирование геномов крупного рогатого скота не прерывается уже несколько лет, начиная с 2007 года. Несмотря на успехи в применении ДНК-чипов в геномной оценке, существуют серьезные проблемы с полным пониманием механизмов воспроизведения фенотипических эффектов одних и тех же SNP у представителей разных пород. Поэтому исследования, направленные на выявление и описание фенотипических эффектов SNP у разных пород, представляют значительный интерес.

Нами был проведен полногеномный поиск QTL-ассоциированных SNP с фенотипическими эффектами у казахского белоголового и аулиекольского скота.

Число общих для двух пород QTL-ассоциированных SNP составило 161, 224, 10 и 84 по признакам живой массы при рождении, отъеме, в 12 месяцев и среднесуточного привеса соответственно. В результате анализа ROH было установлено 6 общих для двух пород участков генома, 7 породоспецифичных участков для казахской белоголовой и 12 породоспецифичных — для аулиекольской породы.

Из 479 общепородных QTL-ассоциированных SNP (161 по признаку живой массы при рождении, 224 по признаку живой массы при отъеме, 10 — живая масса в 12 месяцев и 84 — среднесуточный привес) — только 44 локализованы в участках генома наибольшего сходства у двух пород и 1 в участке породоспецифичном для казахской белоголовой породы. Таким образом, общие для двух пород участки генома 3:27226923-80583890, 5:10025373-46633949, 6:24247306-60786013, 14:41909059-70261140 и 24:55640220-85901225 являются «горячими точками» для поиска генетических маркеров с породоустойчивыми фенотипическими эффектами.

Относительно белок-кодирующих генов, в которых локализованы QTL-ассоциированные SNP, можно отметить, что для некоторых установлено несколько полиморфных вариантов. К таким генам относятся *FAM184B*, *HERC3*, *LAP3*, *MED28*, *TSPAN5*. Гены-кандидаты, в которых локализованы QTL-ассоциированные SNP, общие для обеих пород, в основном кодируют внутриклеточные белки, транслируемые во всех типах тканей и участвующие в общеорганизменных метаболических и физиологических процессах. Относительно внутригенной локализации можно отметить, что по большей части общепородные QTL-ассоциированные SNP расположены внутри интронов либо в регуляторных областях генов-кандидатов.

Работа выполнена в рамках проекта ГФ молодых ученых МОН РК на 2020–2022 гг № AP08052960 «Породоспецифичное QTL-маркирование мясной продуктивности крупного рогатого скота аулиекольской и казахской белоголовой породы на основе полногеномного SNP-чипирования».

О. А. Беляк

ДНК-ИДЕНТИФИКАЦИЯ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНА β -КАЗЕИНА (β -CSN2) КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: o.belyak@igc.by*

Использование ДНК-маркеров молочной продуктивности крупного рогатого скота для селекции по желательным аллельным вариантам генов и признакам, а также отбор по генетическим маркерам элитного молодняка в ремонтное стадо, позволяет направленно формировать высокопродуктивное поголовье, что, несомненно, повысит рентабельность молочного скотоводства.

Белки молока представляют собой сложную фракцию, состоящую из казеинов (α -s1- и α -s2-CSN1, β -казеина (β -CSN2), κ -казеина (κ -CSN3)), сывороточных белков (α -лактоальбумина (α -LA), β -лактоглобулина (β -BLG)) и др. Казеины составляют 78–87% от общего количества молочных белков, причем содержание β -казеина может достигать 45% от общего количества казеинов или 30% от общего белка.

Ген β -CSN2 локализован в 6 хромосоме крупного рогатого скота и имеет 15 аллельных вариантов, среди которых особо значимыми для селекции являются аллели A1 и A2. В результате однонуклеотидной замены в локусе гена β -CSN2 в позиции 4 388 (g.4388A > C, p.His67Pro, rs43703011) аденина (аллель A1A1) на цитозин (аллель A2A2), в аминокислотный состав молока A1 входит гистидин, а в молоко A2 — пролин. Вследствие этого различия, при расщеплении молока, содержащего β -казеин A1, образуется пептид БКМ-7 (бычий β -казоморфин-7), который затрудняет переваривание молока и может вызывать симптомы непереносимости лактозы. Следует отметить, что при расщеплении молока, содержащего форму β -казеина A2, БКМ-7 не образуется, что обуславливает гипоаллергенные свойства молока A2 и является хозяйственно-полезным признаком.

В ходе исследования биологическим материалом для которого послужили образцы цельного молока КРС, идентификация аллелей A1 и A2 гена β -CSN2 проводилась методом секвенирования по Сэнгеру. Данный метод позволяет безошибочно определить аллельный вариант исследуемого гена путем прямого анализа нуклеотидных последовательностей. В результате анализа данных секвенирования 7 экзона гена β -CSN2, ответственного за синтез белка β -казеина крупного рогатого скота, были выявлены гомозиготные аллели A1A1 и A2A2, а также гетерозиготный вариант A1A2. В наших исследованиях было установлено, что частота генотипа A1A1 гена β -казеина (CSN2) составляет 53%, генотипа A1A2 — 39%. Частота предпочтительного аллельного варианта A2 гена β -казеина (β -CSN2) белорусского красного скота составляет 0,28.

А. Е. Гребенчук¹, А. С. Парфенова², Т. В. Забавская², И. С. Цыбовский³

ПАНЕЛЬ ИЗ 14 STR ЛОКУСОВ ДЛЯ ЭКСПЕРТНОЙ ДНК-ИДЕНТИФИКАЦИИ ВОЛКА ОБЫКНОВЕННОГО (*CANIS LUPUS LUPUS*) И СОБАКИ ДОМАШНЕЙ (*CANIS LUPUS FAMILIARIS*)

¹Государственный комитет судебных экспертиз Республики Беларусь
Республика Беларусь, 220073, г. Минск, ул. Кальварийская, 43
e-mail: Iamsanya94@mail.ru

²ГУ «Научно-практический центр
Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь»
Республика Беларусь, 220114, г. Минск, ул. Филимонова 25

³РУП «БелЮрОбеспечение»
Республика Беларусь, 220069, г. Минск, пр. Дзержинского 1Б

Исследование биологических образцов представителей семейства Псовые (*Canidae*) в судебно-экспертных целях проводится при расследовании дел о незаконной охоте, кражи домашних животных, мошенничестве, нападении животных на людей и жестоком обращении с животными. Современные коммерческие панели микросателлитных (STR) локусов разработаны для работы только с ДНК собаки домашней (*Canis lupus familiaris*). При их апробации на ДНК волка обыкновенного (*Canis lupus lupus*) у большинства маркеров наблюдались существенные отклонения от равновесия Харди-Вайнберга, выпадение аллелей и низкий показатель информативной ценности локусов, что не соответствует требованиям при применении тест-систем в судебной экспертизе.

С учетом этих знаний нами были исследованы 42 аутосомных STR локуса, разработанных для различных представителей семейства Псовые. Анализ полученных результатов проводили под углом создания панели для судебного исследования ДНК как волка обыкновенного, так и собаки домашней. Выборка включала 102 образца волка обыкновенного, 199 образцов собак домашних, обитающих и содержащихся во всех регионах Республики Беларусь.

В результате генетико-статистического анализа массива генотипов сформирована 16-локусная панель, включающая 14 идентифицирующих локусов и 2 маркера для генетического определения пола. В отобранных локусах аллельное разнообразие варьировало в диапазоне от 5 до 28 аллелей. Суммарно в исследуемой выборке было выявлено 172 аллеля.

Эффективность панели при идентификации особи и установления биологического родства оценивалась по уровню вероятности исключения родства, когда один родитель известен (CPE1) и два родителя известны (CPE2) и комбинированной вероятности идентификации — CPID (теоретическая). Оцененные вероятности исключения родства CPE1 и CPE2 для 14 локусов в среднем составили 0,650 и 0,785 (для собаки) и 0,595 и 0,743 (для волка), соответственно. Сила исключения для каждого маркера показала высокие значения, которые варьировали от 0,831 до 0,990 в популяции собаки и 0,772 и 0,968 в популяции волка обыкновенного. Теоретическое значение CPID для 14 маркеров составило $6,4 \times 10^{-15}$.

Тест-система валидирована согласно протоколу SWGDAM, апробирована на коллекционных образцах волка обыкновенного и собаки домашней, на реальных криминалистических объектах и успешно используется в экспертной практике при расследовании фактов незаконной охоты и жестокого обращения с животными в Республике Беларусь.

И. Е. Грекова

МЯСНАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ ОВЕЦ ЗАРУБЕЖНЫХ ПОРОД БЕЛОРУСКОЙ СЕЛЕКЦИИ

*Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству
Республика Беларусь, 222163, г. Жодино, 11,
e-mail: igrekova232@gmail.com*

Основные пути развития отрасли овцеводства в Республике Беларусь на перспективу определены не только в увеличении удельного веса продукции овцеводства и повышения ее качества во всех предприятиях с различной формой собственности, но и в увеличении к 2025 году объемов реализации овец (в живом весе) по всем каналам сбыта до 2,30 тыс. тонн. Это позволит расширить ассортимент мясной продукции, поставляемой на внутренний и внешние рынки. В разработанном Комплексе мер по развитию овцеводства в Беларуси предусмотрено удовлетворение потребности населения страны в продукции овцеводства, а также частичное импортозамещение по шерсти и овчинам для организаций, входящий в состав Белорусского государственного концерна по производству и реализации товаров легкой промышленности. В связи с этим определение показателей мясной продуктивности овец белорусской селекции является актуальной задачей, поставленной перед учеными овцеводами в Республике.

Исследования по изучению показателей прижизненной оценки мясной продуктивности у молодняка овец белорусской селекции при разных вариантах чистопородного подбора и межпородного скрещивания проводились в РУП «Витебское племпредприятие» Витебского, ИООО «Истерн Шип» Логойского, ОАО «Жеребковичи» Ляховичского и ОАО «Комбинат «Восток» Гомельского районов. Животные подбирались по принципу аналогов, с учетом возраста, живой массы, породной принадлежности. Условия кормления и содержания соответствовали технологии, принятой в хозяйствах.

В настоящее время в тесном сотрудничестве со специалистами пяти овцеводческих предприятий разработаны, проверены в экспериментальных исследованиях породно-линейные и межпородные варианты: двухпородного скрещивания — мериноландшаф × прекос, прекос × асканийская; простого возвратного — прекос × (романовская × прекос). Установлено, что такое скрещивание позволяет получать высокопродуктивные помеси в возрасте 8–9 месяцев с приростом живой массы более 350 г в сутки, убойным выходом — 52–55%.

Впервые изучены показатели прижизненной оценки мясной продуктивности чистопородного (суффолк, тексель, мериноландшаф, иль-де-франс, прекос) молодняка овец белорусской селекции и помесных животных (МЛД × П; П × А, П × (Р × П), полученных при использовании баранов-производителей зарубежной селекции. Установлено, что чистопородные баранчики и ярочки имеют хорошо развитую мускулатуру, присущую мясным породам овец, показатель мясных кондиций — 11,3–13,2 балла у баранчиков и 11,3–13,4 балла у ярочек. Среди чистопородных сверстников, более высокие показатели оценки прижизненной мясной продуктивности получили баранчики и ярочки породы иль-де-франс. По сравнению со сверстниками пород суффолк, тексель, мериноландшаф, прекос и были выше на 2,1–2,9 балла.

Для увеличения производства высококачественной баранины на товарных фермах и комплексах необходима разработка и внедрение новых вариантов чистопородного разведения с максимальным использованием высокопродуктивных импортных мясных генотипов: иль-де-франс, мериноландшаф, тексель, специализированных в мясном направлении. Полученные результаты прижизненной оценки мясной продуктивности овец белорусской селекции имеют значение как исходные данные для ведения целенаправленной селекционной работы с чистопородными животными и при разработке схем получения помесного молодняка овец с высоким уровнем эффекта гетерозиса для создания высокопродуктивных товарных стад по получению высококачественной баранины. Экспериментальные исследования показали, что продуктивный мясной потенциал разводимых в республике пород овец и их помесей достаточно высокий. Завезенные животные хорошо адаптировались к технологическим условиям содержания мелких и крупных овцеводческих предприятий.

Е. В. Гузенко

УСТАНОВЛЕНИЕ ТАКСОНОМИЧЕСКОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ И ЧИСТОПородНОСТИ ПЧЕЛ *APIS MELLIFERA* L., РАЗВОДИМЫХ НА ПАСЕКАХ БЕЛАРУСИ, С ПОМОЩЬЮ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: E.Guzenko@igc.by

Одним из основных условий сохранения чистоты генофонда любого биологического вида является его достоверная идентификация. Дифференциация подвидов медоносных пчел является сложным процессом и требует специальных знаний. Традиционно она основана на учете морфометрических характеристик пчел [Gruber K. et al., 2013, Nedic N. et al., 2011]. Разработана автоматизированная система анализа изображений насекомых и их идентификации [Frankoy T.M. et al., 2008]. Основными недостатками перечисленных методов являются трудности в подготовке образцов, влияние субъективной оценки на результат анализа, а также растущая метизация пород и линий медоносных пчел. Альтернативным подходом для дифференциации и идентификации подвидов *Apis mellifera* L., а также оценки чистоты и степени гибридизации является молекулярно-генетический анализ с использованием маркеров митохондриального (мтДНК) и ядерного геномов.

В Институте генетики и цитологии НАН Беларуси с 2020 г. ведутся системные молекулярно-генетические исследования медоносных пчел, разводимых на пасеках Минской, Витебской, Гомельской и Брестской областей. Анализ локуса COI-COII мтДНК показал, что большинство пчелосемей принадлежат к эволюционной линии С (южные пчелы). Вместе с тем, обнаружены популяции, относящиеся к эволюционной линии М — *A. m. mellifera* (темная лесная пчела) — уникальный аборигенный для Беларуси подвид медоносных пчел. Установлено, что митотип популяций темной лесной пчелы Гомельской области отличается от митотипа популяций темной лесной пчелы Витебской области (результат рестрикции 600 п. н., 400 п. н., 150 п. н., 95 п. н. и 400 п. н., 150 п. н., 95 п.н., соответственно).

Поскольку анализ мтДНК позволяет установить происхождение и чистоту только по материнской линии, для оценки «генетического вклада» трутней нами разработан комплекс SSR-маркеров с высокой прогностической значимостью (точность кластеризации — от 79,3% до 99,3%; значение индекса фиксации FIS 0,107 (в среднем)). Молекулярно-генетический анализ с использованием данного комплекса маркеров показал, что большинство пчелосемей, взятых в исследование, являлись генетически однородными. Отсутствие дефицита гетерозигот по всем изученным микросателлитным локусам ($H_o < H_e$) свидетельствовало об интенсивном процессе межпородной гибридизации.

Значительный интерес представляет идентификация подвидов *A. m. caucasica*, *A. m. carnica*, *A. m. carpatica*, *A. m. ligustica*, принадлежащих эволюционной линии С, поскольку эти подвиды активно завозятся и разводятся в Беларуси. Анализ локуса COI-COII мтДНК не позволяет дифференцировать указанные подвиды, так как данный локус представлен только элементом Q (350 п. н.) у всех подвидов южных пчел, а технология ДНК-штрихкодирования имеет ограничения. Нами прорабатываются подходы по идентификации подвидов *Apis mellifera* L. эволюционной линии С по полиморфизму фрагмента Фолмера в гене COI мтДНК.

Для выявления и охраны редких популяций с уникальным генофондом, повышения эффективности прикладных исследований для высокопродуктивного пчеловодства необходима точная дифференциация и идентификация подвидов *Apis mellifera* L. с использованием современных методов молекулярной генетики.

Т. В. Долматович¹, Н. С. Сазанович², Е. Н. Макеева¹, Н. Н. Чакова¹, М. Е. Михайлова¹,
Р. И. Шейко¹

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ЛОШАДЕЙ БЕЛОРУССКОЙ УПРЯЖНОЙ ПОРОДЫ НА ОСНОВЕ ПОЛИМОРФИЗМА МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси,
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: t.dolmatovich@igc.by

²Республиканское дочернее унитарное предприятие по племенному делу «ЖодиноАгроПлемЭлита»
Республика Беларусь, 222168, Минская обл., агрогородок Барсуки, ул. Центральная, 1

Митохондриальная ДНК, в отличие от ядерной, характеризуется рядом особенностей: цитоплазматическим наследованием, отсутствием рекомбинации (обмен участками гомологичных хромосом в процессе мейоза) и относительно высокой скоростью мутирования. Эти уникальные свойства митохондриального генома используются при проведении филогенетических и популяционно-генетических исследований.

Цель нашей работы — охарактеризовать генетическое разнообразие лошадей белорусской упряжной породы на основе анализа полиморфизма нуклеотидной последовательности митохондриальной ДНК.

В качестве источника биологического материала использовали образцы волос с луковицами, собранные у лошадей белорусской упряжной породы (ЖодиноАгроПлемЭлита). Выравнивание секвенированных последовательностей проводили в программе UGENE v43.0. Для реконструкции филогенетического дерева использовали пакет MEGA 5.

Проведено секвенирование фрагмента мтДНК длиной 2 700 п. н., включающего *tRNA-Trp*, *tRNA-Ala*, *tRNA-Asn*, *tRNA-Cys*, *tRNA-Tyr*, *COI_tRNA-Phe*, *tRNA-Asp*, *COII*, у 80 образцов лошадей белорусской упряжной породы. Наибольшее количество полиморфных нуклеотидных сайтов идентифицировано в субъединицах I и II цитохром оксидазы: *COI* — 54% и *COII* — 15%. Транзиции составили 88% наблюдаемых замен: T > C (31%), G > A (20%), C > T (19%), A > G (18%), причем количество пуриновых C ↔ T транзиций преобладало над пиримидиновыми A ↔ G. Отношение количества транзиций к трансверсиям составило 7.3.

Проведенное множественное выравнивание секвенированных последовательностей мтДНК лошадей белорусской упряжной породы с 18 известными гаплогруппами AR–R (номера GenBank JN398377–JN398457) позволило построить дендрограмму с использованием модели максимального правдоподобия (MCL) в сочетании с бутстрэп-анализом. В результате среди изученных образцов лошадей белорусской упряжной породы, разводимой в «ЖодиноАгроПлемЭлита», выявлено шесть гаплогрупп: I, F, G, L, M, R, что свидетельствует о генетическом разнообразии материнских линий в селекции породы. Идентифицированные гаплогруппы типичны для популяции лошадей Евразии.

С. Е. Дромашко^{1,2}, А. В. Коршук³

**ВЕБ-ПРИЛОЖЕНИЕ ДЛЯ ХРАНЕНИЯ И РЕДАКТИРОВАНИЯ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ДАННЫХ О ГЕНЕТИЧЕСКИХ, БИОХИМИЧЕСКИХ,
МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ, ПОЛОВЫХ ПОКАЗАТЕЛЯХ РЫБ СЕМЕЙСТВА
КАРПОВЫХ**

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: s.dromashko@igc.by

²Университет НАН Беларуси

Республика Беларусь, 220070, г. Минск, ул. Радиальная, 38Б

³Международный государственный экологический институт имени А.Д. Сахарова БГУ
Республика Беларусь, 220070, г. Минск, ул. Долгобродская, 23
e-mail: tewergan18@gmail.com

В результате выполнения ряда заданий государственных программ в 2007–2020 гг. в Институте генетики и цитологии НАН Беларуси накоплен большой массив данных о различных характеристиках рыб семейств карповых и осетровых, используемых в народном хозяйстве Республики Беларусь. Это позволило изменить применявшийся нами ранее подход к организации информационных ресурсов для карповых рыб с перспективой адаптировать новую разработку на осетровых рыб. В ходе реализации такого нового подхода была разработана база данных на основе СУБД PostgreSQL, содержащая генетические, биохимические, морфометрические и половые характеристики рыб семейства карповых, включая видеофайлы, характеризующие экстерьерные показатели и внешний вид изученных особей. Также были определены средства для программной реализации работы с указанной выше базой данных. В частности, для связи между базой данных и приложением на языке C# в качестве посредника использована технология ADO.NET. Для начала работы с программой в меню представлена возможность выбора вида, породы или отводки, а также их добавления или удаления, включая соответствующие фотографии. Далее идут пункты об экстерьерных, репродуктивных и рыбоводных показателях, а также морфологических особенностях. Генетические показатели позволяют знакомиться с информацией об отдельных локусах и микросателлитных маркерах или вводить/удалять ее.

Таким образом, разработанное веб-приложение — это полноценная система для хранения и редактирования экспериментальных данных о генетических, биохимических, морфометрических, половых и других количественных и качественных показателях рыб семейства карповых. Оно может использоваться как на отдельном компьютере, так и в рамках сети. В приложении предусмотрены также режимы пользователя и администратора. Статус администратора предоставляется ведущим исследования сотрудникам, которые имеют право вносить новые данные и редактировать ранее сохраненную информацию. Пользователи имеют только право знакомиться с представленной в веб-приложении информацией, распечатывать ее и использовать в своих исследованиях.

Разработанное веб-приложение позволило не только систематизировать в удобной современной форме накопленную ранее информацию, оно уже используется в проекте Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований Б22Мн-002 «Сравнительная оценка популяций серебряного *Carassius gibelio* (Bloch, 1782) и золотого *Carassius carassius* (Linnaeus, 1758) карасей в водоемах Беларуси и Монголии по молекулярно-генетическим и по морфо-биологическим критериям».

А. И. Киреева, Е. Л. Романишко

МЕТОД МУЛЬТИПЛЕКСНОЙ ПЦР ДЛЯ ГЕНОДИАГНОСТИКИ БРАХИСПИНАЛЬНОГО СИНДРОМА (ВУ) И ДЕФИЦИТА ФАКТОРА XI СВЕРТЫВАЕМОСТИ КРОВИ (FXID) У КРС

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: akireyeva@mail.ru*

Ввоз племенного материала зарубежной селекции сопряжен с появлением у сельскохозяйственных животных наследственных дефектов, обусловленных генными мутациями. Распространение в популяциях животных-носителей мутантных аллелей может наносить значительный ущерб развитию отечественного животноводства, а также приводить к экономическим потерям в молочной индустрии. Молекулярно-генетические методы детекции казуальных мутаций, обуславливающих наследственные генетические заболевания, должны использоваться для проведения системного скрининга популяций КРС с целью выявления животных-носителей мутантных аллелей и их оперативной элиминации из селекционного процесса.

Генетически обусловленные заболевания КРС брахиспинальный синдром (ВУ) и дефицит фактора XI крови (FXID) наследуются по аутосомно-рецессивному типу. Статус животного-носителя летального аллеля синдрома брахиспины коррелирует с плодовитостью КРС (гаплотип фертильности НН0), которая является одним из наиболее значимых экономических признаков. Такие животные характеризуются выраженным снижением массы тела, задержкой роста, тяжелым пороком развития позвонков, что приводит к значительному укорочению позвоночника. Мутантный аллель гена *FANCI*, детерминирующий данный генетический дефект, несет делецию 3 329 п. н. (Val876Leufs26X) (Fang L. et al., 2013). У животных с генетическим дефектом дефицита фактора XI свертываемости крови могут быть продолжительные кровотечения, анемия, нарушения воспроизводительной функции. У гомозиготных особей наблюдается состояние, подобное мягкой форме гемофилии. Во время лактации коров характерно присутствие крови в молоке (некондиционное сырье), что также приводит к значительным экономическим потерям. Генетический дефект является последствием инсерции длиной 76 п. н. в составе экзона 12 гена *FXI*. В результате образуется STOP-кодон, нарушающий синтез белка (Marron B. et al., 2004).

Был разработан метод мультиплексной полимеразной цепной реакции для одновременного выявления мутантных аллелей, детерминирующих наследственные дефекты ВУ и FXID. При проведении системного скрининга было протестировано 2 662 головы КРС. Выявлено 91 животное-носитель (ВУС, НН0) дефектного аллеля. Частота встречаемости животных-скрытых носителей мутации, ассоциированной с гаплотипом фертильности НН0, составила 3,42% (Романишко Е. и др., 2021). Выявлено 13 животных-носителей (ХИС) мутантного аллеля FXID, их частота в генотипированной выборке составила 0,49%. Предложенный метод мультиплексной ПЦР более экономичный. Позволяет сократить количество реагентов и время ДНК-анализа для проведения одновременной детекции мутантных аллелей двух наследственных генетических дефектов КРС.

М. В. Корнелаева

ВЗАИМОСВЯЗЬ ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНЫХ СПОСОБНОСТЕЙ С РАЗНЫМ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИМ СТАТУСОМ КОРОВ

*Федеральный исследовательский центр животноводства — ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста (ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л. К. Эрнста)
Россия, 142132, Московская область, Городской округ Подольск, поселок Дубровицы, д. 60
e-mail: marikornelaeva@yandex.ru*

Воспроизводительные способности коров имеют важное значение для развития молочного скотоводства наряду с молочной продуктивностью животных. Низкие показатели фертильности сдерживают темпы воспроизводства стада и селекционного процесса, в целом, снижают экономическую эффективность разведения скота.

На показатели воспроизводства влияет множество признаков, в том числе гинекологические заболевания, мастит и заболевания конечностей. В связи с этим изучение фенотипической и генетической взаимосвязи заболеваний с признаками фертильности, а также разработка стратегии отбора и подбора животных с высокой резистентностью к наиболее распространенным болезням высокопродуктивных стад, является актуальным.

Целью исследований было изучение генетической взаимосвязи воспроизводительных способностей коров черно-пестрой голштинизированной породы с разными комплексами заболеваний на примере хозяйства Московской области.

Были взяты данные по заболеваниям разных групп племенной организации, а именно ветеринарные амбулаторные журналы за период 2015–2021 гг. В результате оцифровки ветеринарных журналов и их обработки получены 1 234 записи с учтенными заболеваниями — эндометритом, маститом и заболеваниями конечностей. Для оценки разницы между показателями воспроизводства у животных с одним заболеванием или комплексом из двух и трех заболеваний записи были разделены на 7 групп по количеству учитываемых заболеваний, наблюдавшихся у коровы в течение лактации.

В сравнении со здоровыми коровами, у больных животных было отмечено достоверное ($p < 0,01$) увеличение фенотипических показателей кратности осеменения в лактацию на 0,45 (19,23%) раз, сервис-периода — на 16 (11,03%) дней, дойных дней — на 15 (4,17%) дней. Генетические корреляции кратности осеменения и сервис-периода, и кратности осеменения и дойных дней в обеих группах животных были достоверно высокими, но у здоровых животных они были выше (на 0,2). Генетическая корреляция сервис-периода и дойных дней в группах животных была одинаковой — 0,99.

Самые высокие коэффициенты наследуемости по всем трем признакам фертильности были присущи группе животных, болеющих эндометритом и маститом (0,64 для кратности осеменения в лактацию; 0,77 для продолжительности сервис-периода; 0,83 для количества дойных дней). В группе здоровых животных были низкие коэффициенты наследуемости признаков (0,11 для кратности осеменения в лактацию; 0,14 для продолжительности сервис-периода; 0,15 для количества дойных дней).

Е. Я. Лебедько

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РОСТОВОЙ МОДЕЛИ В ОТБОРЕ И ОЦЕНКЕ ПЛЕМЕННЫХ КОРОВ ИДЕАЛЬНОГО ТИПА

ФГБОУ ВО «Брянский ГАУ»

Российская Федерация, 243365, Брянская область, Выгоничский район,

с. Кокино, ул. Советская, д. 2а

e-mail: vasilev.1958@mail.ru

В селекционно-племенной работе с привлечением математики как инструмента количественного описания признаков, зоотехническая наука вступила в зрелую фазу своего развития. В высокопродуктивных стадах с удоем коров 10 000–12 000 кг молока в год нами разработана ростовая модель молочной коровы идеального типа, представляющая собой набор формальных соотношений, которые отображают поведение организма во времени в определенных условиях. Их относят к классу динамических (детерминистических), которые формируют прогноз живой массы тела (или промера), удоя за лактацию в виде числа.

Прогнозные показатели модели сопоставляются с фактическим результатом. По их соотношению определяется надежность ростовой модели. Кривая роста телок и коров имеет пространственную сигмовидную конфигурацию. С учетом возраста животных ее делят на три части: фаза прогрессивного роста (молодость) — возраст окончания у молочных пород скота 80 мес.; фаза стабильного роста (зрелость) — возраст 6,5–10,0 лет; фаза регрессивного роста (старость) — после 10,0 лет.

Нами путем интегрирования балансового уравнения, лежащего в основе первого начала термодинамики, разработана ростовая модель молочной коровы идеального типа для современного периода селекции и технологии в племенном молочном скотоводстве. Многолетние научные наблюдения над группой телок и коров голштинской породы черно-пестрой масти ($n = 46$) подтвердили в максимальной степени совпадение прогнозных и фактических показателей. Ростовая модель имеет высокую разрешающую возможность и достаточно надежна.

Использование математической ростовой модели позволяет описать возрастные кривые роста как отдельных особей, так и больших групп. Что дает основание и возможность оценить интенсивность роста животных на отдельных этапах эмбриогенеза.

Е. Я. Лебедько

ПРИМЕНЕНИЕ СОВРЕМЕННЫХ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ В СЕЛЕКЦИИ И ТЕХНОЛОГИИ МЯСНОГО СКОТОВОДСТВА

ФГБОУ ВО «Брянский ГАУ»

Российская Федерация, 243365, Брянская область, Выгоничский район,
с. Кокино, ул. Советская, д. 2а
e-mail: vasilev.1958@mail.ru

Начало XXI века ознаменовалось массовым внедрением в селекцию и технологии производства продукции животноводства совершенно новых биотехнологических приемов и методов. Среди них выделяются с большим эффективным результатом их применения, такие как:

- использование в системе искусственного осеменения сексированной (разделенной по полу) спермы быков-производителей;
- трансплантация эмбрионов;
- геномная селекция по расчетным индексам.

В условиях ООО «Брянская мясная компания» АПХ «Мираторг» в системе искусственного осеменения максимально эффективно применяется сексированная сперма быков с целью получения в потомстве большего количества бычков. За ряд лет их было получено от 67,0% до 81,91%.

При производстве эмбрионов в компании используют высокоценных быков-производителей, имеющих свое происхождение из США, Австралии, племзавода «Стивенсон-Спутник» (Россия). На 75–80% используется технология *in vitro* и на 25–20% — *in vivo*. В условиях компании наибольшую эффективность показала технология *in vitro*. В данном случае к донору можно возвращаться через каждые 14 дней. За 75 дней можно провести 5 этапов аспираций (отбор яйцеклеток), где с каждого этапа в среднем можно получить 3,5 эмбриона или 17,5 эмбрионов за период 75 дней. Технология *in vitro* имеет и некоторые недостатки:

- на 10% ниже приживляемость эмбрионов (40,0% против 50,0% по технологии *in vivo*);
- наблюдается крупноплодность телят при рождении на 4,0%, что затрудняет отелы коров.

В мясном скотоводстве осуществляется селекция производителей на быков-лидеров. В ее основе лежит оценка племенной ценности животных (ОПЦ) (EPD или EBV) по 18 селекционным признакам и 5–7 биолого-экономическим индексам.

Таким образом, стратегической основой дальнейшего развития отечественного мясного скотоводства становится применение новых биотехнологических приемов и методов.

С. И. Леонович, А. В. Сидоренко

РАЗРАБОТКА ПРАЙМЕРОВ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ БАКТЕРИЙ *AEROMONAS VERONII* — ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БОЛЕЗНЕЙ РЫБ, МЕТОДОМ ПЦР

Институт микробиологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220084, г. Минск, ул. акад. В. Ф. Купревича, 2
e-mail: mnemozina176@gmail.com

Инфекционные заболевания бактериальной этиологии наносят значительный экономический ущерб промышленному рыбоводству, приводя к массовой гибели рыб и ухудшению качества рыбной продукции. Своевременное выявление и идентификация бактериальных патогенов является необходимым условием для проведения эффективных профилактических и контрольных мероприятий, направленных на снижение потерь рыбы и предупреждение распространения болезни.

Аэромоназ считается одним из наиболее распространенных заболеваний в аквакультуре. Предварительное исследование видового состава аэромонад, циркулирующих в водоемах Республики Беларусь, показало, что от рыб с признаками бактериоза наиболее часто выделяются бактерии *Aeromonas veronii*. Представители данного вида способны вызывать заболевания у пресноводных рыб, амфибий, птиц и сельскохозяйственных животных, а также инфицировать людей с ослабленным иммунитетом.

На основании сравнительного анализа полногеномных последовательностей *A. veronii* из международной базы данных Национального центра биотехнологической информации (NCBI) выбраны генетические локусы, потенциально позволяющие дифференцировать представителей целевого вида от других аэромонад. Сконструированы видоспецифичные праймеры Aver-gyrB-f / Aver-gyrB-r и Aver-hly-f / Aver-hly-r, фланкирующие, соответственно, участок гена β -субъединицы ДНК гиразы (*gyrB*) размером 238 п. н. и фрагмент гена термостабильного гемолизина (*hly*) размером 207 п. н. в геноме *A. veronii*. Оптимизированы параметры стандартной ПЦР и ПЦР в режиме реального времени для идентификации бактерий целевого вида. При исследовании 15 коллекционных штаммов *A. veronii*, выделенных из различных органов рыб с признаками инфекционных заболеваний и идентифицированных на основании сравнительного анализа нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК, подтверждена высокая специфичность, воспроизводимость (100%) и чувствительность (10^9 – 10^5 копий генома/мл) амплификации с праймерами Aver-gyrB-f / Aver-gyrB-r и Aver-hly-f / Aver-hly-r.

Применение ПЦР с разработанными видоспецифичными праймерами для диагностики аэромоназов, вызванных *A. veronii*, обеспечивает получение более быстрых и точных результатов по сравнению с классическим микробиологическим (культуральным) исследованием. Использование в качестве диагностических маркеров фрагментов генов, кодирующих факторы патогенности, позволяет детектировать преимущественно патогенные штаммы *A. veronii* (поскольку среди данных бактерий встречаются и сапротрофы).

Работа выполнена в рамках мероприятия 65 «Разработать и внедрить способ комплексной диагностики возбудителей бактериозов рыб для повышения сохранности объектов аквакультуры» подпрограммы 1 «Инновационные биотехнологии» ГП «Научно-технологические и технические» на 2021–2025 годы.

М. Е. Михайлова¹, Р. И. Шейко¹, А. А. Сермягин², Н. А. Зиновьева²

АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ПОРОДНОЙ ГРУППЫ БЕЛОРУССКОГО КРАСНОГО СКОТА

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси

Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27

e-mail: M.Mikhailova@igc.by

²ФГБНУ ФИЦ «Федеральный исследовательский центр животноводства им. Л. К. Эрнста»

Россия, 142132, Московская область, Городской округ Подольск, поселок Дубровицы, д. 60

e-mail: alex_sermyagin85@mail.ru

Известно, что породная группа красного скота выведена на основе местного скота, обладающего хорошей молочной продуктивностью и приспособленностью к природным условиям Беларуси. На протяжении своей истории красный белорусский скот неоднократно подвергался улучшению путем «прилития крови» более совершенных родственных красных пород. Только за последние 100 лет ему приливалась кровь шести пород: ангельского и красного немецкого в конце прошлого и начале текущего столетий, красного польского и красного датского — в 20–30-х годах, красного эстонского и бурого латвийского — в 50-х годах нашего века.

Впервые проанализировано биоразнообразие и генетическая структура аборигенной популяции белорусского красного скота, установлена его связь с другими европейскими породами «красного корня» с помощью полногеномного анализа SNP. Комплексное молекулярно-генетическое исследование подтвердило, что в современном аллелофонде поголовья белорусского красного скота присутствуют «следы прилития крови» других пород красного корня. Характеристика аллелофонда показала близость генетической структуры российской и белорусской популяций красного скота. Результаты индивидуального филогенетического анализа 4-х пород ($K = 4$) российской и белорусской популяций красного корня показали присутствие в них генов голштинской породы красно-пестрой масти; черно-пестрой, холмогорской и ярославской пород. Это говорит об неоднородности популяций красного скота. Белорусский красный скот продемонстрировал умеренный уровень генетической изменчивости ($U_{HE} = 0,341$) и самый высокий избыток гетерозигот ($U_{FIS} = -0,066$), что может отражать вклад других красных пород Северной и Центральной Европы в его формирование. Проведено ДНК-типирование выборок из популяций белорусского красного скота (100 голов) по локусам генов молочных и сывороточных белков: α -лактоальбумину ($LALBA$), β -лактоглобулину (βLG), β -казеину ($\beta-CSN2$). Выявлена частота предпочтительных аллельных вариантов: А-аллеля гена α -лактоальбумина, В-аллеля гена β -лактоглобулина, а также А2 аллеля гена β -казеина ($\beta-CSN2$) белорусского красного скота, которая составляет 0,68; 0,56 и 0,65 соответственно. Таким образом, близость генетической структуры российской и белорусской популяций красного скота можно объяснить тем, что белорусский красный скот и красные породы скота России входят в общий кластер, объединяющей породы Северной и Центральной Европы, что подтверждает историческое смешение между белорусской красной и другими породами красного скота. Показано, что современная популяция белорусского красного скота является носителем 37,9; 33,3 и 16,9% генов предков буро-швицкого, датского красного и финско-айширского скота соответственно. Установлено, что эти породы вносили свой вклад в генофонд белорусской красной породы в разные периоды ее развития. Полученные данные важны для разработки критериев, характерных для белорусского красного скота, что позволит сохранить и совершенствовать эту породу, а также укрепить продовольственную безопасность страны.

Е. К. Монвила, О. С. Митяшова, О. В. Алейникова, И. Ю. Лебедева

ВЛИЯНИЕ ТРИЙОДИРОНИНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ КЛЕТОК ЖЕЛТОГО ТЕЛА КОРОВ В КУЛЬТУРЕ

Федеральный исследовательский центр животноводства — ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста
Россия, 142132, г. Подольск, пос. Дубровицы, 60
e-mail: montvila94@bk.ru

Гормоны щитовидной железы могут участвовать в регуляции репродуктивной функции самок при использовании различных регуляторных путей: посредством модификации обменных процессов в организме, регуляции функционирования гипоталамо-гипофизарной оси или непосредственно влияя на яичник. Прямое воздействие тиреоидных гормонов на фолликулогенез подтверждается экспрессией соответствующих рецепторов в клетках овариальных фолликулов у некоторых видов, включая крупный рогатый скот (Aghajanova et al., 2009; Costa et al., 2013). В исследованиях *in vitro* продемонстрировано модулирующее действие гормонов щитовидной железы в присутствии фолликулостимулирующего гормона на стероидогенную активность фолликулярных клеток коров и апоптотическую резистентность клеток гранулы свиней (Spicer et al., 2001; Asahara et al., 2003). Желтое тело, образующееся в результате трансформации клеток овулировавшего фолликула, содержит тиреоидные рецепторы и, следовательно, также может быть мишенью для воздействия гормонов щитовидной железы (Navas et al., 2014; Rodríguez-Castelán et al., 2017). В этой связи, при использовании модели *in vitro* культивирования, нами исследовано влияние трийодтиронина, наиболее активной формы тиреоидных гормонов, на пролиферацию, стероидогенез и апоптотические изменения клеток желтого тела коров. Клетки изолировали с помощью 0,5%-ной коллагеназы и культивировали в течение 7–8 сут до образования монослойных колоний в среде с сывороткой, которую затем заменяли на среду без сыворотки, содержащую трийодтиронин (0,5–8,0 нг/мл), и инкубировали в течение 48 ч. После окончания культивирования отбирали образцы сред для определения содержания прогестерона и эстрадиола-17 β методом иммуноферментного анализа. Клетки фиксировали 2%-ным раствором параформальдегида и пермеабелизировали 0,2%-ным раствором Тритона X-100. Неспецифическое связывание иммуноглобулинов блокировали путем обработки клеток 10%-ным раствором нормальной лошадиной сыворотки. Препараты клеток инкубировали с первичными мышиными антителами к ядерному антигену пролиферирующих клеток PCNA (Dako, США) или к проапоптотическому белку Вах (Bio-Rad, США), а затем — со вторыми биотинилированными антителами. Для визуализации специфического связывания применяли Vectastain ABC reagent и коричневый хромофор DAB. Долю PCNA- и Вах-позитивных клеток оценивали по числу клеток, окрашенных в коричневый цвет. Трийодтиронин в концентрации 1–8 нг/мл увеличивал в 1,1–1,2 раза ($p < 0,01–0,05$) долю клеток, экспрессирующих PCNA, по сравнению с контрольной группой. Кроме того, повышение содержания этого гормона в среде до 1–8 нг/мл приводило к снижению уровня Вах-позитивных клеток в 1,1–1,4 раза ($p < 0,001–0,05$). В то же время трийодтиронин не влиял на секрецию клетками прогестерона и эстрадиола-17 β . Результаты исследования показывают, что трийодтиронин в физиологической концентрации (1–2 нг/мл) усиливает пролиферацию и тормозит апоптотические изменения в культуре клеток желтого тела. Таким образом, трийодтиронин может оказывать у коров прямое влияние на развитие и последующую инволюцию желтого тела, которое не связано со стероидогенной активностью клеток.

Работа выполнена в рамках государственного задания (тема 0445-2022-0004).

Ю. И. Охременко, Е. С. Гайдученко

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ СОМИКА АМЕРИКАНСКОГО *AMEIURUS NEBULOSUS* (LESUEUR, 1819) ПО ФРАГМЕНТУ ГЕНА *COI* В БЕЛАРУСИ

ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам»
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
okhremenko.yulia@yandex.by

Сомик американский *Ameiurus nebulosus* (Lesueur, 1819) — один из 18 видов чужеродных рыб в фауне Беларуси, занесенный в Черную книгу инвазивных видов животных.

Установление генетического разнообразия инвазивных видов является одним из важнейших этапов, связанных с оценкой потенциальной угрозы биологическому разнообразию, возникшей на новых территориях. Проведение молекулярно-генетических исследований позволяет получить ряд важных диагностических показателей, которые впоследствии используются в мониторинге и оценке успешности инвазии неаборигенных видов, а также могут предоставить информацию об истории вида и о его происхождении.

Материалом для данной работы послужили данные, собранные на протяжении 2020–2022 гг. с помощью ловушек зонтичного типа. Всего собрано 80 образцов сомика американского из 18 водных объектов Беларуси. Получены последовательности мтДНК гена *COI*, кодирующего первую субъединицу цитохромоксидазы С длиной 708 п. н. Для амплификации использовалась пара праймеров:

FF2d (5'-TTCTCCACCAACCACAARGAYATYGG-3');

FR1d (5'-CACCTCAGGGTGTCCGAARAAYCARAA-3').

Анализ включал 114 последовательностей сомика американского, из которых 14 последовательностей (NCBI GenBank) из приобретенного ареала (Венгрия, Чехия, Польша), 20 последовательностей (NCBI GenBank) из естественного ареала (система Великих озер, США) и 80 последовательностей, полученные нами из Беларуси.

В ходе анализа обнаружено 8 гаплотипов, 3 из которых представлены образцами из Беларуси. Один из гаплотипов (Н1) широко распространен и присутствует на всех исследуемых участках в Беларуси. В наших исследованиях обнаружены 2 гаплотипа (Н2 из оз. Каташи, Кобринского района и Н3 из оз. Ореховское, Малоритского района), которые отличаются от Н1 одной мутацией.

Анализ общего генетического разнообразия по гену *COI* показал высокий уровень гаплотипического ($H_d = 0,786 \pm 0,062$) и низкий уровень нуклеотидного ($0,00212$) разнообразия в естественном ареале. Такие показатели характерны для стабильных и генетически целостных популяций, которые расширяют свою среду обитания с высокой величиной эффективного числа основателей.

Для популяций приобретенного ареала, анализ показал низкий уровень как гаплотипического ($H_d = 0,264 \pm 0,136$), так и нуклеотидного ($0,00097$) разнообразия, в том числе и для образцов из Беларуси ($H_d = 0,050 \pm 0,00113$ и $\pi = 0,00009$ соответственно).

Сравнение уровня генетической вариабельности сомика американского показывает заметно большее генетическое разнообразие из нативного ареала (система Великих озер, США), чем приобретенного (Беларусь), что, вероятно, говорит о вселении наиболее распространенного гаплотипа, от которого впоследствии образовались новые гаплотипы, и его расселении по территории Беларуси путем случайных интродукций.

А. В. Рекубратский, К. В. Ковалев, Д. А. Балашов

ИЗУЧЕНИЕ ГЕНОТОКСИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА КРИОКОНСЕРВАЦИИ СПЕРМИЕВ КАРПА С ПОМОЩЬЮ ГАПЛОИДНОГО АНДРОГЕНЕЗА

Филиал ВНИРО по пресноводному рыбному хозяйству (ВНИИПРХ)

Россия, 141821, Московская область, пос. Рыбное

e-mail: recobra@mail.ru

Метод индуцированного андрогенеза очень важен для исследований в области криобиологии рыб и может быть применен для решения двух основных задач (Грунина и др., 2011):

1. С помощью диплоидного андрогенеза можно восстановить генотипы ценных, редких или даже полностью вымерших видов или популяций из генетического материала криоконсервированных спермиев.

2. С помощью гаплоидного андрогенеза можно изучать генетические последствия криоконсервации спермы, в том числе выявлять рецессивные летальные повреждения, возникающие при замораживании и оттаивании, или же индуцированные криозащитной средой. При обычном диплоидном размножении рецессивные летали выявить невозможно, так как они компенсируются материнским геномом. Ранее с помощью гаплоидного андрогенеза был показан существенный генотоксический эффект после криоконсервации спермиев сибирского осетра и белуги (Грунина и др., 2011).

Здесь мы сообщаем об изучении генотоксического эффекта при криоконсервации спермиев карпа. Суть проверки заключается в сравнении жизнеспособности андрогенетических гаплоидных зародышей, полученных с использованием нативной и криоконсервированной спермы, на протяжении эмбриогенеза (гаплоиды у рыб жизнеспособны только на эмбриональных и частично личиночных стадиях развития). Для генетической инактивации яйцеклеток применили коротковолновое УФ-излучение. Использовали икру от одной самки карпа и сперму от одного самца декоративного карпа кои. Получение андрогенеза и криоконсервацию спермы проводили по методикам, разработанным во ВНИИПРХ (Балашов и др., 2020; Докина и др., 2019).

Карп кои, сперма которого была использована в опыте, несет два рецессивных гена окраски, действие которых в гомозиготном состоянии обуславливает отсутствие пигментных клеток и проявляется уже в эмбриогенезе (Катасонов, 1977). Отсутствие пигментированных зародышей в опытном варианте доказывает полную генетическую инактивацию яйцеклеток в результате УФ-облучения и индукцию андрогенетического развития. Полнота генетической инактивации яйцеклеток подтверждается также тем, что все эмбрионы в опытном варианте несли характерные морфологические уродства, характерные для гаплоидного синдрома. Ни одной диплоидной личинки в опыте не обнаружено.

Выживаемость эмбрионов, развивающихся из нативной и криоконсервированной спермы, была одинаковой как в контрольном варианте (обычное скрещивание), так и опытном (гаплоидный андрогенез). Таким образом, криоконсервация не вызвала ни доминантных, ни рецессивных летальных повреждений в хромосомах спермиев. Если доминантные летали выявляются легко в диплоидном контроле, то выявление рецессивных леталей стало возможным только с использованием метода индуцированного андрогенеза.

Отсутствие генотоксического эффекта криоконсервации спермы карпа указывает, что качество использованной криозащитной среды и процедур замораживания и оттаивания оказались хорошими. В дальнейшем предполагается регулярно оценивать качество новых криозащитных сред и технологий с помощью этого метода.

Е. Л. Романишко, А. И. Киреева

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ДЕФЕКТ АЛЬФА-МАННОЗИДОЗ В БЕЛОРУССКОЙ ПОПУЛЯЦИИ АБЕРДИН-АНГУССКОГО КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: LenaRamanishko@mail.ru*

Повсеместное использование племенной продукции (эмбрионы, сперма) высокопродуктивных животных посредством искусственного осеменения влечет за собой риски распространения в популяциях сельскохозяйственных животных наследственных дефектов, приводящих к гибели животных и, как следствие, к экономическим потерям в животноводстве. Поэтому разработка и внедрение молекулярно-генетических методов детекции причинных мутаций, обуславливающих генетически детерминированные заболевания, позволяют проводить ДНК-диагностику с целью исключения животных-носителей генетических дефектов из селекционного процесса или, зная их генетический статус, использовать в товарных стадах молочного направления продуктивности.

Альфа-маннозидоз (МА) является одним из первых выявленных генетически детерминированных заболеваний у абердин-ангусской породы крупного рогатого скота. Это моногенное летальное аутосомно-рецессивное лизосомальное заболевание, приводящее к неонатальной смертности телят. Данное заболевание обусловлено однонуклеотидной заменой тимина на цитозин в кодирующей области гена *MAN2B1* (7:g.13957949, c.961T > C, p.Phe321Leu). *MAN2B1* кодирует лизосомальную α -маннозидазу, которая является низкоспецифической экзогликозидазой, основная функция которой — деградация гликопротеинов. Замена фенилаланина на лейцин в 321 положении приводит к образованию функционально неактивного белка. Дефицит α -маннозидазы приводит к глобальным нарушениям обмена веществ у животных (<https://www.vgnki.ru/assets/files/broshyura-o-testah-aberdin-angusskoj-porody.pdf>). Гомозиготные по мутантному аллелю телята погибают в ранний неонатальный период. Выжившие животные рождаются без признаков физических недостатков, однако в течение первого года у телят наблюдается тяжелое прогрессирующее неврологическое заболевание, характеризующееся атаксией, тремором головы, агрессией, что в конечном итоге приводит к параличу и смерти животного. Клинические проявления МА связаны с накоплением богатых маннозой соединений, вызванных дефицитом фермента альфа-маннозидазы (2 Tollersrud O.K. et al., 1997).

С целью выявления генетического дефекта α -маннозидоза в белорусской популяции была разработана ДНК-диагностика с использованием KASP технологии. Нами протестировано 40 голов абердин-ангусского скота из 2 с/х предприятий республики. Исследованная выборка оказалась мономорфной, животных-носителей мутантного аллеля не выявлено. Однако, согласно литературным данным, в мире частота гетерозиготных носителей α -маннозидоза у абердинов составляет 5,4% (Healy P. J. et al., 2008). Поэтому разработанный метод позволит проводить молекулярно-генетическую экспертизу поголовья абердин-ангусского скота согласно требованиям, принятым международно-правовыми актами Евразийского экономического союза.

А. М. Слуквин, Я. И. Шейко, Я. П. Кулешевич

НЕОБХОДИМОСТЬ ПРОВЕДЕНИЯ РЕВИЗИИ МАТОЧНЫХ СТАД КАРПА ПО МАРКЕРАМ ГЕНОВ ХОЗЯЙСТВЕННО-ПОЛЕЗНЫХ ПРИЗНАКОВ

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: A.Slukvin@igc.by; Y.Sheiko@igc.by*

В мире интенсивно проводятся работы по поиску генетических маркеров хозяйственно-полезных признаков у животных. Основные тенденции современной селекционно-племенной работы с прудовым карпом, проводимые в странах ближнего и дальнего зарубежья, направлены на решение проблем по изучению генома у карпа, на создание однополых и стерильных стад, на оценку молекулярно-генетической и биохимической структуры имеющихся пород и линий карпа для поддержания чистоты пород, проведение селекционных работ, направленных на повышение продуктивности и максимальное сокращение времени выращивания товарной продукции, на создание пород карпа с улучшенными потребительскими качествами (малочешуйчатость, малокостность, устойчивость к гипоксии, увеличение и улучшение мышечной части в тушке товарной рыбы), на поиск маркеров генов иммунной устойчивости к заболеваниям, на изучение негативного влияния среды обитания и мутационного процесса у рыб. Применение современных молекулярно-генетических технологий позволяет повысить точность оценки и прогнозирования продуктивных качеств рыб, при этом исследования можно проводить сразу после вылупления личинок рыб из яйцеклеток, задолго до проявления анализируемых фенотипических признаков, что значительно ускоряет процесс селекции, повышает эффективность и экономическую рентабельность рыбоводства (Симонов В.М., 2012).

Одним из наиболее перспективных маркерных генов для оценки и прогнозирования мясной продуктивности у животных является ген миостатина (*MSTN*) (D. Aiello et al., 2018). Белок, кодируемый этим геном, регулирует развитие мышечных тканей у различных видов наземных и водных позвоночных. Мутации в миостатиновом гене могут приводить к двукратному и в некоторых случаях даже трехкратному увеличению массы мышц у животных. Установлена связь некоторых полиморфизмов гена *MSTN* с увеличением мышечной массы у обыкновенного карпа и тиляпии (Sun Y, et al., 2012; Nasema A. Elkatatny1 et al., 2016; Khalil K., et al., 2017).

Учеными ряда стран было установлено, что к ключевым генам, регулирующим репродуктивную функцию и плодовитость у позвоночных, относятся гены дифференциального фактора роста *GDF9*, трансформационного фактора роста β I (*TGF- β*) и ген рецептора фолликулостимулирующего гормона *FSHR* (Lin Liu 1et al., 2006; Ellen R. Busby et al., 2010; Zhiwei Zhang et al., 2015). Зная генотипы генов (*GDF9*, β I (*TGF- β*), *FSHR*), которые отвечают за скорость созревания яйцеклеток, можно прогнозировать репродуктивные качества у рыб, осуществлять селекционный отбор карпа с высокой репродуктивной способностью, что позволяет снизить явление инбридинга, уменьшить число производителей при проведении нерестовой кампании и тем самым снизить затраты на содержание производителей.

Сотрудниками Института генетики и цитологии НАН Беларуси и Института рыбного хозяйства НАН Беларуси при финансовой поддержке БРФФИ (договор № Б21УЗБГ-026 от 15.11.2021 года) в рамках белорусско-узбекского проекта начаты работы по ревизии маточных стад белорусских и узбекских пород карпа по гену миостатина (*MSTN*) и генам (*GDF9*, β I (*TGF- β*), *FSHR*), влияющим на массонакопление и репродуктивные показатели.

Е. В. Снытков, В. Н. Кипень, М. Е. Михайлова, Р. И. Шейко

ОДНОНУКЛЕОТИДНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ С ВЫСОКИМ ДИФФЕРЕНЦИРУЮЩИМ ПОТЕНЦИАЛОМ ДЛЯ СВИНЕЙ ПОРОДЫ ДЮРОК

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: evsnytkov@gmail.com*

Порода свиней дюрок получает все большее распространение в товарном свиноводстве Республики Беларусь, так как племенной молодняк пользуется большим спросом у производителей свинины из-за высокого выхода мяса отличного качества с высокими вкусовыми и технологическими свойствами. Также стоит отметить, что свиньи породы дюрок обладают высокой ценностью при селекции на повышение неспецифической защиты организма, а потому они широко используются в промышленном свиноводстве при совершенствовании существующих пород свиней и создании новых линий.

Цель работы — оценить дифференцирующий потенциал отобранных ранее SNP (Single Nucleotide Polymorphism) на тестовой выборке животных для дифференциации свиней породы дюрок от других пород.

В исследование были включены следующие породы свиней: белорусская крупная белая — БКБ (38 шт.), белорусская мясная — БМ (12 шт.), дюрок — ДЮ (26 шт.), ландрас — ЛА (9 шт.), йоркшир — ЙО (10 шт.). Биологические образцы (выщипы ушной раковины) свиней были отобраны сотрудниками СГЦ «Заднепровский» (Витебская обл., Беларусь). Для выделения ДНК использовали набор «Нуклеосорб» (Праймтех, Беларусь). Концентрацию ДНК и степень ее очистки определяли с использованием спектрофотометра Implen Nano Photometer N50 (Implen, Германия). Выбор SNP для молекулярно-генетического анализа обусловлен результатами биоинформатического анализа, полученными нами ранее [DOI: 10.29235/1561-8323-2022-66-3-301-309]. Для генотипирования по SNP Chr.4:50695555T > C (rs81381939), Chr.7:106301845A > G (rs80967182), Chr.8:47482649G > T (rs81333725), Chr.14:99099156T > C (rs80859281), Chr.16:32192496C > T (rs81458130) использовали технологию KASP (Kompetitive allelespecific PCR, LGC Biosearch Technologies, Великобритания). ПЦР проводили на амплификаторе QuantStudio 5 (AppliedBiosystems, США) согласно протоколу производителя. Дифференцирующий потенциал SNP определяли с использованием ROC-анализа в SPSS v.20.0.

Исследуемые SNP в порядке увеличения дифференцирующего потенциала расположились в следующей последовательности: Chr.4:50695555T > C (AUC = 0,712, 95% ДИ = [0,578–0,845], $p = 0,002$), Chr.16:32192496C > T (AUC = 0,833, 95% ДИ = [0,750–0,917], $p < 6,0E-7$), Chr.8:47482649G > T (AUC = 0,887, 95% ДИ = [0,820–0,953], $p < 7,1E-9$), Chr.14:99099156T > C (AUC = 0,942, 95% ДИ = [0,870–1,0], $p < 3,5E-11$), Chr.7:106301845A > G (AUC = 0,957, 95% ДИ = [0,919–0,995], $p < 7,9E-12$).

Таким образом, нами подтверждены ранее полученные результаты биоинформатического анализа на выборке свиней породы дюрок, разводимых в Республике Беларусь. Применяемый нами подход позволит охарактеризовать SNP с высоким дифференцирующим потенциалом и для других пород свиней.

Н. И. Тиханович, Н. А. Камыш

ХАРАКТЕРИСТИКА БЕЛОРУССКОГО ПОГОЛОВЬЯ КРС ГОЛШТИНСКОЙ ПОРОДЫ ПО ПОЛИМОРФИЗМУ STR-ЛОКУСОВ

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: N.Tikhanovich@igc.by*

Современная теория селекции животных основывается на детальном изучении генетических аспектов улучшения породных и продуктивных качеств пород крупного рогатого скота (КРС). Интенсивная селекция КРС привела к созданию специализированных пород. При существующей системе разведения КРС большую опасность представляет снижение в породе, стадах, линиях, семействах генетического разнообразия, которое существенно влияет не только на продуктивность и воспроизводство, но и резко ограничивает приспособляемость к условиям содержания, жизнеспособности потомства (Зиновьева Н. А., Гладырь Е. А., 2011; Эрнст Л. К., Зиновьева Н. А., 2008).

Проведено генотипирование животных по 19 полиморфным микросателлитным локусам в мультиплексе: BM 1824, BM 2113, ETH 3, ETH 10, ETH225, INRA 23, SPS 115, TGLA 122, TGLA 126, BM 1818, TGLA 227, ETH 185, CSRM 60, TGLA 263, SPS 113, CSSM 66, RM 067, INRA 63, ILSTS 006. В результате проведенного анализа генотипической и аллельной характеристики крупного рогатого голштинской породы по потенциально информативным STR-локусам выявлена тенденция увеличения показателей наблюдаемой гетерозиготности (H_o) над ожидаемой (H_e) для локусов SPS115, TGLA122, BM2113, BM1824, ETH10 и ILSTS006. Максимальное преобладание наблюдаемой гетерозиготности (H_o) над ожидаемой (H_e) отмечена в локусе ILSTS006 ($Fis = -0,0713$). В изученной выборке особей средняя фактическая гетерозиготность ($H_o = 0,6893$) статистически значимо уступала ожидаемой ($H_e = 0,7185$), что свидетельствует о дефиците гетерозигот. Наиболее высокие значения индекса фиксации (Fis) были отмечены в локусах ETH225 (0,194) и INRA63 (0,1914), для которых наблюдается смещение равновесия в сторону существенного недостатка гетерозигот. Значение показателя эффективное число аллелей (n_e), характеризующий локусы по частоте аллелей, в изучаемой выборке генотипов варьировало от 2,1710 (локус INRA 63) до 7,4408 (локус TGLA 227). Среднее эффективное число аллелей на локус составило 3,8503. Следует отметить, что среднее наблюдаемое число аллелей на локус (n_a) составляет 7,4737, что в 2 раза превосходит среднее эффективное число аллелей на локус (средние $n_a = 7,4737$ и $n_e = 3,8503$). Рассчитанный показатель гетерозиготности популяций служит ориентиром для дальнейшей селекционной работы с целью недопущения инбридинга, так как выявленный нами средний уровень наблюдаемой гетерозиготности H_o указывает на незначительный дефицит гетерозигот в геноме исследованных животных данной выборки.

Обеднение генофонда КРС в будущем может привести к отрицательным непредсказуемым последствиям. Важно поддерживать максимально возможное разнообразие генофонда КРС. Необходимым условием для проведения таких работ является проведение генетического мониторинга пород КРС на молекулярном уровне.

А. И. Царь¹, О. И. Добыш¹, В. Ю. Агеец², Т. А. Сергеева²

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ЮГОСЛАВСКОЙ И НЕМЕЦКОЙ ПОРОД КАРПА (*CYPRINUS CARPIO CARPIO*), АДАПТИРОВАННЫХ К УСЛОВИЯМ БЕЛАРУСИ

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: A.Tsar@igc.by

²РУП «Институт рыбного хозяйства»
Республика Беларусь, 220024, г. Минск, ул. Стебенева, 22

Для увеличения производства рыбы важно создание высокопродуктивных межпородных кроссов, что предусматривает подбор лучших компонентов для скрещивания, обеспечивающих получение гетерозисного эффекта у потомства. Высокая генетическая гетерогенность белорусских пород карпа и их приспособленность к местным климатическим условиям успешно дополняется преимуществами карпов зарубежной селекции, обладающих высоко- и широкоспинным экстерьером и повышенным темпом роста. В республике также имеются немногочисленные стада адаптированных пород карпа зарубежной селекции, составляющие коллекционный генофонд, в частности, югославского и немецкого. Племенная работа с коллекционным генофондом зарубежных пород направлена, прежде всего, на сохранение их генетической чистоты и контроля инбридинга. Для этих целей на современном этапе все шире применяются молекулярно-генетические методы.

Материалом для исследования служили плавники двух пород карпа: югославского и немецкого (по 53 образца). Генетическое разнообразие оценивали по 16-ти микросателлитным локусам (MFW1, MFW2, MFW6, MFW7, MFW9, MFW10, MFW11, MFW13, MFW10, MFW16, MFW20, MFW24, MFW26, MFW28, MFW29 и Cid0909). Статистический анализ данных проводили с использованием программ GenAlEx v.6.5, STRUCTURE v.2.3.4.

Были рассчитаны показатели, характеризующие генетическую структуру изученных популяций. Среднее число аллелей на локус составило 421 для карпа югославской породы, а для карпа немецкой породы — 331 аллель при одинаковом объеме выборки. Число эффективных аллелей (N_e) в локусах варьировало от 7,890 (MFW10) до 22,472 (MFW15) для карпа югославской породы, тогда как для немецкого карпа диапазон варьирования оказался шире — от 4,989 (MFW10) до 24,4083 (MFW2).

Наибольшее значение показателя ожидаемой гетерозиготности (H_e) отмечено для локуса MFW15 (0,956) для карпа югославской породы, а для карпа немецкой породы для локуса MFW2 (0,958), наименьшее — для локуса MFW10 (0,873) для карпа югославской породы и для локуса MFW10 (0,800) для карпа немецкой породы.

Для карпа немецкой и югославской пород уровень наблюдаемой гетерозиготности H_o оказался примерно одинаковым и составил $0,801 \pm 0,026$ и $0,787 \pm 0,023$ соответственно. Среднее значение I (индекс разнообразия Шеннона) для карпа югославской породы было выше ($2,847 \pm 0,067$), чем для карпа немецкой породы ($2,590 \pm 0,084$). Чем выше индекс Шеннона, тем больше видовое разнообразие сообщества.

Исходя из показателей гетерозиготности (H_e), числа редких (с частотой встречаемости менее $\leq 5\%$) и приватных аллелей (встречаются только в одной из исследованных групп), для каждой особи обеих пород рассчитано значение уровня генетического разнообразия. Особи ранжированы по группам: высокий, средний и низкий уровень генетического разнообразия. У югославского карпа 58% особей имели средний уровень, 39% — высокий и лишь 1 особь низкий уровень генетического разнообразия. Для 28% немецкого карпа установлен высокий уровень генетического разнообразия. Остальные особи характеризовались средними показателями. Генетически обедненных особей в популяции немецкого карпа не обнаружено.

А. И. Царь¹, М. С. Парфенчик¹, В. Ю. Агеец², Т. А. Сергеева²

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ПОПУЛЯЦИИ АМУРСКОГО САЗАНА (*CYPRINUS CARPIO HAEMATOPTERUS*), ВЫРАЩИВАЕМОГО В АКВАКУЛЬТУРЕ В БЕЛАРУСИ

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
²РУП «Институт рыбного хозяйства»
Республика Беларусь, 220024, г. Минск, ул. Стебенева, 22
e-mail: A.Tsar@igc.by

Амурский сазан используется для скрещиваний в селекционных программах по выведению новых пород карпа. При этом необходим контроль и поддержание генетического разнообразия ремонтно-маточного стада амурского сазана, выращиваемого в аквакультуре и используемого для получения товарной рыбы. Особи амурского сазана характеризуются сравнительно низким значением коэффициента упитанности и обхвата тела, и в сравнении с карпом имеют сниженные темпы роста, однако отличаются повышенной резистентностью к воспалению плавательного пузыря, высокой комбинационной способностью и выживаемостью.

Нами проведено исследование разнообразия аллелей по 14 микросателлитным локусам (MFW1, MFW6, MFW7, MFW9, MFW10, MFW11, MFW13, MFW15, MFW16, MFW20, MFW24, MFW26, MFW28, MFW29) выборки амурского сазана, состоящей из 60 особей. В 14 STR-локусах было идентифицировано 263 аллеля. Число аллелей варьировало от 10 до 28 при среднем значении $18,786 \pm 1,399$. Наибольшее число аллелей представлено по маркерным локусам MFW7 и MFW20 — соответственно 26 и 28. Число эффективных аллелей (N_e) в локусах варьировало от 3,604 (MFW10) до 16,364 (MFW20) при среднем значении $9,678 \pm 1,039$ аллеля на локус. Индекс биоразнообразия Шеннона (I) отражает сложность структуры сообщества, основываясь на количественной представленности объектов по анализируемым локусам в популяции (находится в интервале значений 0–5). Значение индекса I , рассчитанного для совокупности 14 STR-локусов, составило $2,454 \pm 0,105$.

Наибольшее значение показателя наблюдаемой гетерозиготности (H_o) было отмечено для локуса MFW7 (0,923), наименьшее — для локуса MFW24 (0,345) при среднем значении $0,667 \pm 0,056$. Наибольшее значение показателя ожидаемой гетерозиготности (H_e) было отмечено для локуса MFW20 (0,939), наименьшее — для локуса MFW10 (0,722) при среднем значении $0,876 \pm 0,017$. Наибольшее рассчитанное значение коэффициента FIS для исследованной выборки амурского сазана показано для локуса MFW13 (0,577) при среднем значении по 14 STR-локусам $0,226 \pm 0,064$.

Ранее нами была проанализирована выборка из 56 особей. Сравнение графиков парных генетических дистанций показало, что выборка из 56 особей («осень 2020») более гетерогенна, чем анализируемая выборка из 60 особей («зима 2020»). На графике генетического подобия, в котором объединены особи указанных двух выборок, можно выделить 5 кластеров, один из которых является однородным. В данном кластере представлены особи из выборки «зима 2020», тогда как в остальных четырех кластерах присутствуют особи двух выборок. Наиболее гомогенной является кластер особей группы с идентификаторами №№ 360–389. Селекционерами данная группа заявлена как белорусский сазан.

Таким образом, расчет генетических показателей для каждой особи и их размещение на дендрограмме позволяет выявить перспективных производителей для дальнейшего использования в селекционных программах, исходя из высоких показателей гетерозиготности и генетического разнообразия, а также оптимизировать процессы поддержания ремонтно-маточного стада и селекции (подбор пар для скрещивания).

В. И. Чинаров**СОСТОЯНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ МОЛОЧНОГО СКОТОВОДСТВА РОССИИ***ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л. К. Эрнста**Россия, 142132, п. Дубровицы**e-mail: vchinarov@yandex.ru*

Порода, по своей сути, является носителем генетической уникальности крупных популяций животных. Поэтому разнообразие пород для развития молочного скотоводства становится обязательным элементом в решении глобальной проблемы сохранения генетических ресурсов и повышения устойчивости отрасли.

Если в 2009 году коровы голштинской породы занимали 4,5% в молочном стаде страны, то в 2021 году уже 36,3%. Интенсивный переход на монопороду и отход от основных принципов, разработанных в ВИЖе под руководством академика Л. К. Эрнста, теоретических основ «крупномасштабной селекции» в молочном скотоводстве привели к существенным диспропорциям в породном разведении.

Ориентация в селекционно-племенной работе только на повышение молочной продуктивности и игнорирование основного конкурентного преимущества отечественного молочного скотоводства — многопородности (генетического разнообразия), стало основной причиной генетического ослабления крупных популяций скота.

Бесконтрольная «голландизация» повлекла снижение продуктивного долголетия коров и сохранности молодняка, став основной причиной прекращения самовоспроизводства в стадах и устойчивого регресса в молочном скотоводстве России.

Несмотря на то, что за последние двенадцать лет в страну было завезено более полумиллиона племенных нетелей, поголовье коров молочного направления продуктивности сократилось на 2,0 млн голов, или по 168 тыс. коров ежегодно. Маточное поголовье в товарных стадах стремительно сокращается, а в племенных хозяйствах стабилизировалось на уровне 1,1 млн коров за счет ежегодного введения в основное стадо более 21% импортных первотелок. В целом импортозависимость маточного стада в племенных хозяйствах сейчас составляет 22,1% при доле импортных нетелей на внутреннем рынке 36,3%. Особенно неблагоприятное воздействие на состояние молочного скотоводства России оказал бесконтрольный импорт семени быков-производителей, подняв уровень инбридинга в крупнейших популяциях крупного рогатого скота, потерявших способность к самовоспроизводству. Высокая импортозависимость в племенной продукции и демпинговые цены на нее значительно ослабили создававшийся десятилетиями в нашей стране базис для проведения суверенной селекции.

Если не предпринять кардинальных мер по сохранению породного разнообразия в России, то за следующую пятилетку во всех категориях хозяйств поголовье коров молочного направления продуктивности сократится более чем на 400 тыс. голов.

Возрождение системы «крупномасштабной суверенной селекции» при определении направлений племенной работы с крупным рогатым скотом и наращивание масштабов разведения молочных пород невозможно без «Государственной программы по сохранению молочного скотоводства России». Мы считаем, что для перехода к системному управлению процессом воспроизводства в скотоводстве на основе использования принципов крупномасштабной селекции в составе АО «Головной центр по воспроизводству сельскохозяйственных животных» необходимо создать «Государственный информационно-аналитический центр по племенному животноводству», наделив его полномочиями по учету племенных животных (племенных стад), проведению анализа, сбору и обработке информации, разработке селекционных программ и мероприятий, а так же по контролю за ходом выполнения планов селекционно-племенной работы в стадах.

В. С. Шевцова¹, Л. В. Гетманцева², А. В. Усатов¹

ДНК-ПОЛИМОРФИЗМЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ПЛОДОВИТОСТЬЮ ОВЕЦ ВОЛГОГРАДСКОЙ ПОРОДЫ

¹Академия биологии и биотехнологии ЮФУ

Россия, 344040, г. Ростов-на-Дону, ул. Стачки, 194/1

e-mail: barbaragen4@mail.ru

²ФГБУ «ЦСП» ФМБА России

Россия, 119121, Москва, Погодинская д. 10с1

Целью работы является определение на основе результатов полногеномного генотипирования аллелей, ассоциированных с признаком плодовитости у овец волгоградской породы.

Для исследования отобраны 48 овцематок волгоградской породы. Временной период исследования — 4 ягнения. Исследуемая выборка разбита на 2 группы: первая представлена животными, у которых за обозначенный период наблюдались единичные ягнения (при этом допускается одна двойня); у представительниц второй группы за тот же период зарегистрировано минимум два двойневых окота. Генотипирование проведено на чипах средней плотности OvineSNP50 Genotyping BeadChip, содержащих свыше 54 тыс. SNP. Результаты генотипирования обработаны с помощью программных пакетов R и plink. Позиции точек обновлены до сборки генома *Ovis aries* — Oar_rambouillet_v1.0. В ходе фильтрации результатов генотипирования из анализа исключены точки, локализованных на X хромосоме и мтДНК; удалены SNP, по которым доля успешного генотипирования составляет менее 0,1; удалены минорные аллели с частотами менее 0,05; проведена проверка на соответствие закону Харди-Вайнберга и фильтрация по локусам LD (linkage disequilibrium — неравновесие по сцеплению). Для поиска полиморфизмов, ассоциированных с признаком плодовитости применен метод Fst (расчет индексов фиксации). Отобраны SNP со значением Fst выше 0,9999 квантиля. Аннотирование значимых полиморфизмов проведено с помощью встроенного инструмента VEP (Variant Effect Predictor) в геномном браузере Ensembl. Функции генов-кандидатов определены с помощью баз данных NCBI Gene и GeneCards.

В результате исследования выявлено 5 полиморфизмов, ассоциированных с признаком плодовитости у овец, локализованных в хромосомах 2 (два SNP), 3 (два SNP) и 25 (один SNP). Три полиморфизма расположены в интронах генов *PAPPA* (rs398770769, замена T > C), *CDH23* (rs421900966, замена A > G) и *PPFIBP1* (rs427281101, замена C > T). Ген *PAPPA* кодирует ассоциированный с беременностью белок плазмы А, который играет важную роль в обеспечении женской фертильности у человека. В норме экспрессируется в плаценте. Ген *CDH23*, кадгерин 23 — относится к суперсемейству кадгеринов. Преимущественно экспрессируется в яичниках и жировой ткани. У овец наибольшие уровни экспрессии выявлены в сальнике и фолликулах яичников, более низкие уровни экспрессии — в плаценте и матке. Белок, кодируемый геном *PPFIBP1*, является членом семейства белков, взаимодействующих с тирозинфосфатазой (липрин). Наиболее высокие уровни экспрессии у человека обнаружены в тканях яичников, в плаценте и сердце. Два остальных полиморфизма, выявленных в ходе исследования, локализованы в межгенных регионах. Дальнейшие исследования позволят подробнее изучить их связь с воспроизводительными признаками овец.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-316-90048.

Я. И. Шейко, А. М. Слуквин

ИЗУЧЕНИЕ СЕРЕБРЯНОГО (*CARASSIUS GIBELIO* (BLOCH, 1782) И ЗОЛОТОГО (*CARASSIUS CARASSIUS* (LINNAEUS, 1758) КАРАСЕЙ ПО МОРФО-БИОЛОГИЧЕСКИМ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИМ КРИТЕРИЯМ

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: Y.Sheiko@igc.by, A.Slukvin@igc.by

В естественных водоемах Республики Беларусь род карасей (*Carassius* Nilsson, 1832) представлен двумя видами: золотой (*Carassius carassius* (Linnaeus, 1758) и серебряный (*Carassius gibelio* (Bloch, 1782) (Беляев В. И., 1986). Серебряный карась является чужеродным видом, однако по численности в водоемах республики он преобладающий. Массовое расселение карася серебряного в Беларуси явилось результатом начатой в 1948 г. целенаправленной его акклиматизации с использованием посадочного материала из бассейна Амура. Ко второй половине 1950-х годов серебряный карась натурализовался в водных объектах республики, постепенно вытесняя аборигенного золотого карася. По данным промысловой статистики в Беларуси в 2012 г. серебряный карась отмечен в 147, а золотой — только в 5 водоемах. Эти факты указывают на явную тенденцию замещения в водоемах Беларуси карася золотого карасем серебряным. Это явление характерно не только для Беларуси, но и для водоемов Европы (Lusk S. et al., 2010) и России (Абраменко М. И., 2007). По современным представлениям, серебряный карась является сложной в таксономическом отношении группой, состоящей из нескольких подвидов легко скрещивающихся между собой (Богущая Н. Г. и др., 2013; Kottelat M. et al., 2007). В связи с этим в последнее время эти группы карасей обозначаются, как *Carassius auratus complex* (Britton, R., 2011), либо как *Carassius auratus sensu lato* (Вехов Д. А., 2013). Отдельный интерес вызывают однополые линии серебряного карася, состоящие из триплоидных самок, размножающихся посредством гиногенеза без участия самцов. В процессе адаптации серебряного карася к условиям Беларуси происходит переход от более распространенной ранее гиногенетической триплоидной формы карася к амфимиктической диплоидной (Костоусов Г. В. и др., 2021; Полетаев А. С. и др., 2019; Ризевский В. К. и др. 2013).

Исследования карасей начаты в 2022 году в рамках совместного белорусско-монгольского научного проекта (договор № Б22Мн-002 от 4 мая 2022 года), целью которого является сравнительное изучение генетического разнообразия в популяциях обоих видов карасей в водоемах Беларуси и Монголии, а также разработка методов видовой ДНК идентификации карасей с использованием молекулярно-генетических маркеров (cyt b, Д-петли мтДНК и микросателлитных маркеров). К настоящему времени проведен сбор материала для исследований в водоемах Минской, Брестской и Гомельской областях. Из 10 модельных водоемов золотой карась был выловлен только в одном — в Споровском озере Брестской области. Серебряный карась встречался практически во всех водоемах. Всего было отловлено 138 экз. карася, из них 9 экз. золотого. У выловленных особей определены масса тела, половая принадлежность, возраст и морфометрические характеристики (L, l, H, O). Морфометрический анализ одновозрастных особей не выявил достоверных отличий между двумя видами, хотя в литературе отмечается отличие золотого карася по уплощенной форме тела и более короткому хвостовому стеблю. Отмечено, что у некоторых особей, имеющих фенотипическое сходство с золотым карасем, при вскрытии обнаруживалась черная серозная оболочка брюшной полости, характерная для серебряного карася. По половому составу выявлено двукратное преобладание самок по сравнению с самцами у обоих видов, причем у обоих видов отмечено прохождение 2 нереста за сезон в августе. Прижизненным методом отобрано и зафиксировано 276 экз. образцов грудного плавника для проведения генетических исследований.

**ГЕНЕТИКА ЧЕЛОВЕКА,
МЕДИЦИНСКАЯ И СПОРТИВНАЯ
ГЕНЕТИКА**

Р. М. Али

LNCRNA PVT1 ПРИ СИНДРОМЕ ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ

Южный Федеральный Университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д. И. Ивановского
Россия, 344090, Ростовская область, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки 194/1
e-mail: ruba.m.ali@mail.ru

Ген варианта транслокации 1 плазмоцитомы (*PVT1*) кодирует длинную некодирующую РНК (lncRNA) и расположен на хромосоме 8q24.21. Этот локус представляет собой «ломкий» участок для генетических aberrаций, включая транслокации, амплификации, вирусную интеграцию и множественные локусы риска возникновения рака или других заболеваний (Jin K. et al., 2019). Как и большинство lncRNAs, *PVT1* демонстрирует более 25 аннотированных вариантов транскриптов. Соответственно, разные транскрипты *PVT1* могут иметь различную биологическую функцию и по-разному экспрессироваться в разных тканях. Исследования показали, что *PVT1* экспрессируется на низких уровнях в нормальных тканях, в то время как он сверхэкспрессируется в двадцати пяти различных опухолевых тканях, таких как аденокарцинома предстательной железы, рак поджелудочной железы, желудка, легких и молочной железы (Martínez-Barríos et al., 2020). Было показано, что *PVT1* может участвовать в перестройках ДНК, способствовать пролиферации и ангиогенезу, что в конечном итоге может способствовать канцерогенезу с использованием различных механизмов благодаря его взаимосвязи с Мус, p53 и STAT3 и другими транскрипционными факторами в онкогенном процессе. Интересно, что онкогенный *PVT1* является одним из модуляторов рецепторов андрогенов. Показано, что нокдаун *PVT1* в клеточной линии рака предстательной железы увеличивает уровни экспрессии совокупности генов, подавляемых андрогенами. Несмотря на то, что *PVT1* хорошо изучен как онкогенный фактор, в исследовании, проведенном в Китае в 2019 году, упоминалась роль *PVT1* в регуляции пролиферации гранулезных клеток яичников и секреции эстрадиола и прогестерона у пациентов с СПКЯ. Он действует по оси *PVT1*/microRNA-17-5p/PTEN (Videira et al., 2020). Таким образом, lncRNA *PVT1* в качестве модулятора AR может играть важную роль в развитии гиперандрогении, связанной с СПКЯ. Мы исследовали уровень экспрессии *PVT1* в гранулезных клетках у 10 пациентов с СПКЯ и 13 здоровых женщин с использованием qRT-PCR. Нами было показано, что *PVT1* был сверхэкспрессирован у большинства пациентов по сравнению с контрольной группой, но результаты среди пациентов сильно различаются. Для дальнейшей характеристики механизма действия *PVT1* при развитии СПКЯ мы можем выбрать человеческую гранулезоподобную опухолевую клеточную линию KGN в качестве стероидогенной клеточной модели и протестировать функцию *PVT1* путем нокдауна с использованием siRNA с последующей qRT-ПЦР для оценки уровня экспрессии генов, связанных с AR.

Р. М. Али, С. В. Ломтева, Т. П. Шкурат

АССОЦИАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ (GPX1, CAT) С СИНДРОМОМ ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ

*Южный Федеральный Университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д. И. Ивановского
Россия, 344090, Ростовская область, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки 194/1
e-mail: ruba.m.ali@mail.ru*

Синдром поликистозных яичников (СПКЯ) — распространенное многофакторное эндокринное заболевание, которое встречается у 5–20% женщин репродуктивного возраста и является одной из основных причин женского бесплодия (Deswal R. et al., 2020). В последнее время появляется все больше доказательств того, что окислительный стресс и снижение антиоксидантного статуса участвуют в патогенезе СПКЯ. Каталаза (CAT) и глутатионпероксидазы (GPX1) являются ферментами в системе антиоксидантной защиты, которые детоксифицируют перекись водорода (H_2O_2). Полиморфизмы в генах, кодирующих эти ферменты (rs1001179) CAT, (rs1050450) GPX1, ассоциируются с различными многофакторными заболеваниями и могут играть важную роль в патогенезе СПКЯ. Rs1001179 и rs1050450 приводят к снижению активности фермента. Таким образом, повышенный уровень АФК с пониженной антиоксидантной способностью GPX1 или CAT приводит к накоплению H_2O_2 и усилению окислительного стресса. Целью нашего исследования было изучение генетической изменчивости в путях, связанных с окислительным стрессом, и ее ассоциации с риском развития СПКЯ. Мы провели исследование случай-контроль на 26 пациентках с СПКЯ и 33 здоровых женщинах в России, с последующим мета-анализом для изучения ассоциации rs1001179 с риском развития СПКЯ, и провели мета-анализ для изучения rs1050450. В различных базах данных был проведен систематический поиск литературы в соответствии с методическими рекомендациями по систематическим обзорам и мета-анализу PRISMA. В наш анализ были включены 1 123 случая и 923 здоровых женщины. Значительная ассоциация с риском СПКЯ была обнаружена для rs1050450 по доминантной и аллельной модели ($p = 0,01$, OR = 1,38; $p = 0,004$, OR = 1,35) соответственно, в то время как rs1001179 не является фактором риска развития СПКЯ. Наши результаты подтверждают необходимость проведения дальнейших исследований, принимая во внимание возможность того, что комбинация полиморфных локусов в генах антиоксидантных ферментов, таких как SOD2, GPX1, CAT, PON1 и другие элементы в ферментативной и неферментативной системе антиоксидантной защиты, могут играть важную роль в патогенезе СПКЯ.

Исследование выполнено на оборудовании ЦКП «Высокие технологии» ЮФУ при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания в сфере научной деятельности № 0852-2020-0028.

Алсет Дема¹, Е. В. Бутенко¹, И. О. Покудина¹, Т. П. Шкурят¹, Н. Б. Кузнецова²

АНАЛИЗ АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ФОЛАТНОГО ЦИКЛА И АНГИОГЕНЕЗА МАТЕРИ С ЗАДЕРЖКОЙ РАЗВИТИЯ ПЛОДА

¹ФГАОУ ВО Южный федеральный университет

Российская Федерация, 344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1
e-mail: alset@sfedu.ru

²«Клиника Профессора Буштыревой»

Российская Федерация, 344003, г. Ростов-на-Дону, пер. Соборный, 58/7

Задержка развития плода (ЗРП) затрагивает от 10 до 15% беременных во всем мире, в России встречается с частотой 2,4–17,6%. Известно, что ЗРП связана с пренатальной и постнатальной смертностью, составляющей 12% в фетальном и 8% в неонатальном периоде. В последнее время исследователи сосредоточились на генетических аспектах ЗРП, особенно на выявлении генов-кандидатов, связанных с риском развития этого синдрома. До сих пор возможные эффекты нескольких полиморфизмов на развитие ЗРП широко изучались в разных популяциях, но имеющиеся данные противоречивы.

Целью данного исследования явилось изучение ассоциации генетических вариантов *MTHFR* 677C > T; *MTRR* 66A > G; *MTR* 2756A > G; *AGT* 704T > C и *VEGFA* 634C > G с риском ЗРП у беременных женщин Ростовской области.

Образцы крови 103 беременных женщин (средний возраст 30,2 года) были собраны в ГУ «Перинатальный центр» Ростовской области и, в зависимости от диагноза, были разделены на две группы: ЗРП (n = 46) и контрольная, соответствующая беременности без каких-либо осложнений (n = 57). Диагноз был поставлен по данным УЗИ и доплерографии. Геномную ДНК выделяли из лейкоцитов цельной крови с помощью реагента «ДНК-экспресс-кровь» (НПФ «Литех», (Россия). ПЦР в реальном времени проводили на приборе CFX96 («BioRad», США), с использованием комплектов реагентов («Литех», Россия). Статистический анализ выполнен с использованием портала «медицинская статистика» (Казань, Россия) (<https://www.medstatistic.ru/>). При сравнении частот аллелей и генотипов в контрольной и исследуемой группах использовали критерий χ^2 . Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Степень риска развития ЗРП оценивали по величине отношения шансов (ОШ) с расчетом 95% доверительного интервала (ДИ).

Среди пяти изученных полиморфизмов *MTRR* 66A > G и *AGT* 704T > C показали значительную ассоциацию с риском ЗРП (значение $P = 0,025$ и $0,049$ соответственно). Для носителей генотипа *MTRR* 66 (GG) установлен повышенный риск ЗРП (ОШ = 3,18, 95% ДИ: 1,31–7,72). При этом гетерозиготное носительство *MTRR* 66 (AG) было ассоциировано с более низким риском ЗРП (OR = 0,37, 95% ДИ: 0,17–0,84). По нашим данным, полиморфизм гена *AGT* 704T > C оказывает значительное влияние на развитие ЗРП, при этом аллель Т повышает риск (ОШ = 1,78, 95% ДИ: 1,002–3,17) и аллель С снижает его (ОШ = 0,58, 95% ДИ: 0,32–1).

Гены фолатного цикла и ангиогенеза, в частности *MTRR* и *AGT*, оказывают значительное влияние на формирование и функционирование плаценты, и могут быть вовлечены в патогенез ЗРП. В исследуемой популяции *MTRR* 66GG детектировали в группе пациентов с ЗРП значительно чаще, чем в контроле, и, таким образом, этот полиморфизм может рассматриваться как фактор риска. С другой стороны, аллель *AGT* 704C продемонстрировал защитный эффект и был связан с низким риском ЗРП.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания в сфере научной деятельности № 0852-2020-0028. «Биохимические и молекулярно-генетические исследования механизмов патологических процессов, ассоциированных с социально-значимыми заболеваниями».

М. Д. Амелянович¹, Д. А. Кучерявая¹, М. Л. Лущик², Л. И. Данилова²

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА *FTO* С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ОЖИРЕНИЯ

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси

Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27

e-mail: M.Ameliyanovich@igc.by

²Белорусская медицинская академия последипломного образования

Республика Беларусь, 220013, г. Минск, ул. П. Бровки, 3, корпус 3

Избыточный вес и ожирение представляют собой аномальное и чрезмерное отложение жировой ткани в организме человека, наносящее существенный вред здоровью. Наиболее часто для диагностики избыточного веса и ожирения у взрослых применяется индекс массы тела (ИМТ) — простое отношение массы тела в килограммах к квадрату роста в метрах. Согласно рекомендациям ВОЗ, избыточный вес диагностируется при ИМТ выше 25, ожирение — при ИМТ выше 30. Повышенный ИМТ существенно увеличивает риск развития сердечно-сосудистых заболеваний, метаболического синдрома, сахарного диабета и т. д.

В настоящее время большое внимание уделяется профилактике ожирения, заключающейся в нормализации рациона питания, увеличении физической активности, соблюдении здорового образа жизни. Молекулярно-генетическая диагностика позволит на ранних этапах формировать группы риска среди населения и улучшить профилактические меры.

В данном исследовании проведен анализ ассоциации полиморфных вариантов rs10852521, rs11075990, rs1121980, rs1421085, rs1477196, rs17817449, rs3751812, rs4783819, rs7206790, rs8047395, rs9939609, rs9940128, rs9941349 гена *FTO* с риском развития ожирения.

В исследовании приняли участие 442 добровольца трудоспособного возраста, проживающих на территории Республики Беларусь. Контрольная группа — 273 добровольца с ИМТ < 25, пациенты с ожирением — 169 человек с ИМТ > 30. Забор биологического материала осуществлялся на клинических базах кафедры эндокринологии государственного учреждения образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования». Полиморфные варианты гена *FTO* анализировали с помощью полимеразной цепной реакции с детекцией результатов в режиме реального времени (ПЦР-РВ) с зондами TaqMan (Thermo Fisher Scientific, США) в соответствии с инструкцией производителя.

Анализ распределения частот полиморфных вариантов в группах показал увеличение риска развития ожирения у носителей минорных гомозигот полиморфных вариантов rs11075990, rs1121980, rs1421085, rs17817449, rs3751812, rs9939609, rs9940128, rs9941349 (от OR = 1,83 95% CI 1,12–2,99 до OR = 2,05 95% CI 1,17–3,59, $P < 0,05$). Таким образом, тестирование по данным полиморфным вариантам целесообразно проводить для определения групп риска развития ожирения и применения превентивных корректирующих мероприятий по модификации процентного содержания и распределения жировой массы.

Исследование выполнено в рамках задания 6.1 «Разработать ДНК-технологии выявления генетического риска эндокринных заболеваний» научно-технической программы Союзного государства «ДНК-идентификация».

М. Н. Аммар

АНТИСМЫСЛОВАЯ НЕКОДИРУЮЩАЯ РНК В ЛОКУСЕ *INK4* (*ANRIL*) И РОЛЬ ЕЕ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ В МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЧЕЛОВЕКА

*Академия биологии и биотехнологии им. Д. И. Ивановского, Южный Федеральный Университет
Ростовская область, 344090, г. Ростов На Дону, Проспект Стачки 194/1
e-mail: biolog@sfsu.ru*

Ген Antisense non-coding RNA at the *INK4* locus (*ANRIL*) располагается у человека на хромосоме 9 21.3 и кодирует молекулу длинной некодирующей РНК (LncRNA). Геномный локус *INK4* также содержит несколько других важных кодирующих-белок генов, включая ингибитор циклин-зависимой киназы 2A/B (*CDKN2A/B*). *ANRIL* представляет собой комплексный ген, состоит из 21 экзона, транскрибируется в направлении, противоположном (антисмысловом) гену *CDKN2A/B*, и репрессирует его транскрипцию. *ANRIL* транскриптируется у человека на высоком уровне в кишечнике и моноцитах. LncRNA *ANRIL* регулирует экспрессию генов тканеспецифичным образом путем цис- и транс-регуляции и модификации хроматина или влияния на сигнальные сети микроРНК. Эволюционное развитие *ANRIL* у человека было изучено путем сравнительного анализа 27 геномов разных организмов. Основной причиной интереса к изучению гена *ANRIL* является большой объем геномных данных, связывающих генетические вариации в гене *ANRIL* с риском заболеваний человека. Например, недавние результаты исследований общегеномных ассоциаций (GWAS) показали, что многие однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) в локусе *ANRIL* являются факторами риска онкологических (rs3731257-G, rs3731217-G и rs1011970-T) и метаболических заболеваний, таких как атеросклероз, сердечно-сосудистые заболевания, ожирение и диабет 2 типа (rs10757278-G, rs564398-A и rs10811661-T). Очевидно, что ген *ANRIL* является сайтом множества полиморфизмов, связанных с метаболическими заболеваниями, но его определенную роль в патогенезе человека необходимо охарактеризовать более подробно, чтобы использовать LncRNA *ANRIL* в качестве мишени для новых методов лечения широкого спектра заболеваний человека.

Исследование выполнено на оборудовании ЦКП «Высокие технологии» ЮФУ при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания в сфере научной деятельности № 0852-2020-0028.

М. Н. Аммар, М. А. Шкурат, Л. В. Гутникову, Т. П. Шкурат

АССОЦИАЦИЯ ОДНОНУКЛЕОТИДНОГО ПОЛИМОРФИЗМА RS689 ГЕНА ИНСУЛИНА (*INS*) С РАЗВИТИЕМ ОЖИРЕНИЯ У ДЕТЕЙ ИЗ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Академия биологии и биотехнологии им. Д. И. Ивановского, Южный Федеральный Университет
Ростовская область, 344090, г. Ростов-на-Дону, Проспект Стачки 194/1
e-mail: biolog@sfedu.ru

Распространение ожирения постоянно растет не только у взрослых, но и среди детей. В настоящее время ожирение в детском и подростковом возрасте признается глобальной проблемой. Исследования, касающиеся этиологии развития ожирения, являются актуальными, поскольку дети с избыточным весом / ожирением, как правило, становятся взрослыми страдающими ожирением тоже. Ожирение является серьезной проблемой здоровья, связанной с осложнениями, которые увеличивают заболеваемость и преждевременную смерть. Существуют доказательства о роли разных генетических вариаций в увеличение продолжительности к развитию ожирения. Ген инсулина (*INS*) и его генетические варианты играют важную роль в возникновении и прогрессировании ожирения. Было показано, что полиморфизм rs689, расположенный в позиции +215 п. о. гена *INS*, связан с развитием ожирения в популяциях европейцев и австронезийцев, но отсутствуют четкие данные о роли SNP rs689 в патогенезе ожирения у российской популяции. Целью данного исследования является изучение ассоциации SNP rs689 гена *INS* с риском ожирения у группы детей из Ростовской области. В исследовании приняли участие 200 детей в возрасте 4–17 лет. На основании индекса массы тела (ИМТ) и биохимических показателей липидного профиля, уровня глюкозы и инсулина в крови, дети были разделены на две группы: (1) контрольная группа с нормальным весом и (2) группа с ожирением. Генотипирование полиморфизма rs689 было проведено методом TaqMan RT-PCR. Распределение генотипов и частота аллелей SNP rs689 были следующими: A/A: 56,52%; A/T: 34,78%; T/T: 8,7%; A: 73,91%; T: 26,09% в контрольной группе, A/A: 57,98%; A/T: 19,33%; T/T: 22,69%; A: 67,65%; T: 32,35% в группе с ожирением. Анализируя результаты, было обнаружено, что гомозиготный по минорному аллелю генотип T/T rs689 достоверно ассоциирован с увеличением риска ожирения в исследуемой группе (OR = 3,082; 95% CI: 1,203–7,896; P-value = 0,0191). Следовательно, генотип T/T SNP rs689 считается фактором риска развития ожирения (RR = 1,378; 95% CI: 1,121–1,695). В заключение, гомозиготный по минорному аллелю генотип T/T полиморфизма rs689 гена *INS* ассоциирован с развитием ожирения у детей из Ростовской области в Российской Федерации.

Исследование выполнено на оборудовании ЦКП «Высокие технологии» ЮФУ при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания в сфере научной деятельности № 0852-2020-0028.

И. Ю. Бакутенко¹, И. Д. Кужель¹, Н. В. Никитченко¹, Е. В. Сечко², И. А. Козыро²,
А. М. Чичко², Г. М. Батян², А. В. Сукало², Н. И. Рябоконт¹

ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОГО РИСКА ВОЗНИКНОВЕНИЯ ЮВЕНИЛЬНЫХ АУТОИММУННЫХ РЕВМАТИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: n.ryabokon@igc.by

²Белорусский государственный медицинский университет
Республика Беларусь, 220016, г. Минск, пр. Дзержинского, 83
e-mail: kafedra.pediatric1@yandex.ru

Многофакторная (полигенная) природа и сходство симптоматики ювенильных аутоиммунных ревматических заболеваний, с одной стороны, а также тяжесть протекания и необходимость постановки точного диагноза для корректного лечения, с другой стороны, свидетельствуют о необходимости проведения комплексных исследований с целью поиска общих и болезнь-специфических ДНК-маркеров предрасположенности к заболеваниям этой группы. Целью проведенного исследования было выявление молекулярно-генетических маркеров предрасположенности к социально значимым аутоиммунным ревматическим заболеваниям у детей.

Исследование проведено на пациентах из белорусской популяции в возрасте до 18 лет и включало 182 чел. с диагнозом ювенильный идиопатический артрит (ЮИА), 31 чел. с ювенильной системной красной волчанкой (ЮСКВ), 32 чел. с синдромом Кавасаки (СК), 368 детей в группе негативного (клинического) контроля и 229 детей с суставным синдромом не аутоиммунной этиологии (позитивный контроль для группы с ЮИА). Образцы ДНК выделены из венозной крови и изучены по 25 полиморфным локусам 21 гена с использованием ПЦР-РВ, аллель-специфичной ПЦР и ПЦР-ПДРФ. Для анализа достоверности различий между группами применяли расчеты отношения шансов и 95% доверительного интервала. Статистическая значимость различий принималась при $p < 0,05$.

Выявлено 11 полиморфных локусов, ассоциированных с риском возникновения исследуемых заболеваний. Наибольшее количество (6 единиц) ДНК-маркеров (или генотипов риска) обнаружено для ЮСКВ, среди которых 4 оказались болезнь-специфичными (ТТ *NCF2* rs17849502, СС или GС *STAT4* rs7582694, ТТ *IRF5* rs2004640, GГ или ТГ *FAS* rs7069750). Для ЮИА выявлено 4 ДНК-маркера, 2 из которых, по-видимому, являются болезнь-специфичными (АА *AGER* rs1035798 и СС *SLC7A11-PCDH18* rs13128867), из них 1 (АА *AGER* rs1035798) ассоциирован с риском раннего (до 6 лет) проявления заболевания. Для СК обнаружено 3 ДНК-маркера, среди которых 1 проявил специфичность к заболеванию (АГ *BLK* rs2248932). Среди выявленных ассоциаций с заболеванием 3 установлены впервые (rs1035798 *AGER*, rs1048990 *PSMA6* и rs13128867 *SLC7A11-PCDH18* — с ЮИА) и 1 впервые для европейской популяции (*NCF2* rs17849502 — с ЮСКВ). Обращает на себя внимание тот факт, что 50% маркеров ЮСКВ расположены в генах, вовлеченных в систему поддержания гомеостаза, а именно, в фагоцитоз (ген *NCF2*), апоптоз (*FAS*) и протеасомную деградацию белков (*PSMC6*), остальные — в иммунный ответ и клеточный сигналинг.

Таким образом, нами выявлены ДНК-маркеры способствующие постановке точного диагноза у пациентов, имеющих одно из 3 исследуемых заболеваний: ЮИА, ЮСКВ или СК. Полученные данные также дают новую информацию для понимания молекулярно-генетических механизмов возникновения ювенильных ревматических заболеваний.

Работа выполнена в рамках задания 6.4С НТП Союзного государства «ДНК-идентификация» (2017–2021 гг.).

К. Г. Бобровская, Е. В. Белая, М. О. Шерстень

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ РЕЦЕПТОРА ВИТАМИНА D (VDR) И КОЛЛАГЕНА (COL1A1) НА РАЗВИТИЕ СКОЛИОЗА У ДЕТЕЙ И ШКОЛЬНИКОВ ПРИ СОЗДАНИИ ЗДОРОВЬЕСБЕРЕГАЮЩЕЙ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ

*Белорусский государственный педагогический университет им. М. Танка
Республика Беларусь, 220030, г. Минск, ул. Советская, 18
e-mail: kristina34127@mail.ru, Belaya005@rambler.ru, makc2216@mail.ru*

На протяжении последних лет сохраняется устойчивая тенденция к росту патологии костно-мышечной системы среди подросткового населения. У 70% детей и подростков отмечается замедление темпов созревания скелета, недостаточная минерализация костной ткани. Заболевания костно-мышечной системы и соединительной ткани составляют 13,1% от общей заболеваемости детского населения. Одной из основных причин формирования патологии костно-мышечной системы у детей и подростков является изменение молекулярно-генетического регулирования, что выражается нарушением кальциевого обмена. К одной из причин, инициирующей изменение процесса минерализации костной ткани, можно отнести изменение генов, кодирующих белки, принимающих участие в этом процессе, а именно: гена рецептора кальцитонина (*CALCR*), гена коллагена I типа (*COL1A1*), гена рецептора витамина D (*VDR*). Появление молекулярно-генетических и биохимических технологий позволило взглянуть на проблему сколиозов, далекую от решения и на современном этапе развития медицины, с более фундаментальных позиций. Общеизвестно, что сколиоз является мультифакторным заболеванием, развитие которого обусловлено как генетической предрасположенностью, так и воздействием различных факторов внешней среды.

Витамин D был открыт и долгое время изучался как основной фактор фосфорно-кальциевого обмена, который участвует в формировании и нормальном функционировании костной ткани. Витамин D и его метаболиты играют ключевую роль в костном обмене и фосфорно-кальциевом гомеостазе, влияют на рост и дифференцировку клеток в различных органах-мишенях. Кроме того, известно, что витамин D является лигандом для ядерного рецептора, кодируемого геном *VDR*, являющегося регулятором активности многих генов-мишеней путем его взаимодействия со специфическими последовательностями ДНК. Установлено, что под воздействием кальцитриола, или витамина D₃, снижается экспрессия гена коллагена I типа (*COL1A1*). Ген *COL1A1* кодирует белок альфа1-цепи коллагена I типа и является потенциально значимым в формировании генетической предрасположенности к остеопорозу и хрупкости костей с риском переломов. Мутации в локусе данного гена приводит к возникновению особей различных фенотипов, в том числе жизнеспособных и фертильных особей, так и тех, которые характеризуются летальностью еще в эмбриональном периоде развития.

Проведенный нами анализ научной литературы показал связь минеральной плотности костей и наличием различных аллельных вариантов гена витамина D и полиморфизмами в регуляторной области гена коллагена I типа (*COL1A1*). По мнению большого количества исследователей, имеется определенная взаимосвязь между снижением минеральной плотности костной ткани, остеопоротическими явлениями и функциональным состоянием генов *COL1A1* и *VDR*. Патология костно-мышечной системы у подростков является результатом взаимодействия многих наследственных (генетических) факторов и неблагоприятных факторов внешней среды. Основная роль в патогенезе заболевания отводится более 30 генетическим факторам, которые рассредоточены, по крайней мере, по 5 различным генным сетям как локального, так и интегрального порядка.

Д. В. Большакова¹, М. П. Смаль¹, А. И. Мурадханов², Ю. А. Поддубный²,
А. И. Ролевич², С. А. Красный², Р. И. Гончарова¹

ГЕРМИНАЛЬНЫЕ МУТАЦИИ ГЕНОВ РЕПАРАЦИИ *BRCA2*, *BRCA1* И *ATM* У ПАЦИЕНТОВ С ПЕРВИЧНЫМ МЕТАСТАТИЧЕСКИМ РАКОМ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: d.bolshakova@igc.by

²РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова
Республика Беларусь, 223040, Минский р-н, аг. Лесной

Рак предстательной железы (РПЖ) — наиболее частое злокачественное новообразование у мужчин, находящееся на 3-м месте в структуре всех онкологических заболеваний в Республике Беларусь. Наследственные нарушения репарации ДНК, прежде всего генов гомологичной рекомбинации, не только увеличивают риск развития РПЖ, но также ассоциированы с неблагоприятным прогнозом и плохим ответом на системную терапию. Цель исследования: оценить частоту герминальных мутаций генов гомологичной рекомбинации ДНК у пациентов белорусской популяции с впервые выявленным метастатическим раком предстательной железы (мРПЖ).

Материалы и методы. В исследование включено 40 пациентов с первичным мРПЖ в возрасте от 45 до 88 лет (медиана возраста — 69 лет), проходивших лечение в РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова. У 35 пациентов наблюдалось множественное, у 2 пациентов одиночное метастатическое поражение, составляющее 94,6% и 5,4% соответственно. Поражение регионарных лимфоузлов зарегистрировано у 30 пациентов (81%). По системе дифференцировки Глисона пациенты разделились следующим образом: Grade Group (GG) 2 — 2 пациента (5%); GG3 — 4 пациента (10%); GG4 — 10 пациентов (25%); GG5 — 19 пациентов (47,5%); у 5 пациентов (12,5%) нет данных гистологического исследования. Образцы ДНК выделены из периферической крови и исследованы методом высокопроизводительного таргетного секвенирования на платформе Illumina.

Результаты. Выполнен анализ герминальных мутаций генов *BRCA2*, *BRCA1* и *ATM*. Фильтрация вариантов этих генов осуществлялась по частоте минорного аллеля, не превышающей 1% в популяции, согласно базам данных ExAc, GnomAD и 1000G. После исключения мутаций в интронных областях, а также синонимичных замен в экзонах исследуемых генов, было обнаружено 11 вариантов у 10 пациентов (25%): 4 в гене *BRCA2*, 3 в *BRCA1* и 4 в *ATM*. Согласно базам данных ClinVar, HGMD и LOVD, патогенные мутации генов репарации ДНК выявлены у 2 пациентов (5%). Мутация rs80357711 расположена в 10 экзоне гена *BRCA1* и представляет собой делецию одного нуклеотида (4035del, p.Glu1346fs), приводящую к сдвигу рамки считывания (frameshift variant). Вариант rs587779866, находящийся в 52 экзоне гена *ATM*, является однонуклеотидной заменой 7630-2A > C и затрагивает 3'-акцепторный сайт сплайсинга (splice acceptor variant). Остальные выявленные варианты гена *BRCA2* (rs28897706, rs28897727, rs4987117, rs28897747), гена *BRCA1* (rs28897688, rs2889767) и гена *ATM* (rs1800056, rs1800057, rs1800058) не являются патогенными.

Выводы. У пациентов с впервые выявленным мРПЖ наблюдается высокая частота герминальных мутаций генов репарации ДНК (25% случаев), патогенные варианты обнаружены в генах *BRCA1* и *ATM*. Последующий анализ дефектов генов гомологичной рекомбинации у большего числа пациентов позволит выявить патогенные варианты, обладающие наибольшей прогностической значимостью в отношении мРПЖ.

И. Г. Буланов

ОРГАНИЗАЦИЯ БЕЛОК-КОДИРУЮЩИХ И БЕЛОК-НЕКОДИРУЮЩИХ ГЕНОВ, ЛОКАЛИЗОВАННЫХ НА Y ХРОМОСОМЕ ЧЕЛОВЕКА: ПОИСК АССОЦИАЦИЙ С ГЕНАМИ ФАКТОРА АЗОСПЕРМИИ И ЭКСПРЕССИЕЙ В ТКАНЯХ

Южный Федеральный Университет
Россия, 344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки 194/1
e-mail: ibulanov@sfedu.ru

Функции длинных некодирующих РНК (днРНК) зависят от их локализации в геноме. В то время как большинство работ сконцентрированы на их функциональной роли в регуляции транскрипции, важно понимать взаимосвязь между локализацией днРНК и их функцией. Человеческий геном содержит регуляторные и конститутивные последовательности. Существует небольшое количество днРНК в конститутивных последовательностях, а регуляторные последовательности, как правило, ассоциированы с тканеспецифичными генами и богаты днРНК. Мы исследовали локализацию днРНК в цис-регуляторных регионах и интронах некоторых генов на Y хромосоме, экспрессированных в тестикулах (*SRY*, *BPY2*, *CDY1*) и множестве тканях (*USP9Y*, *DDX3Y*, *KDM5D*), согласно геномному браузеру UCSC. Сравнительный анализ показал, что гены из первой группы (*SRY*, *BPY2*, *CDY1*) имеют от 0 до 4 интронов в своей структуре, значительное межгенное расстояние и от 3 до 4 окружающих их некодирующих РНК: у гена *SRY* — 4 (LINC00102, ENSG00000278847, LINC00278, ENSG00000286130), у гена *BPY2* — 4 (TTTY4, TTTY17A, ENSG00000235059, SNORA70), у гена *CDY1* — 3 (TTTY3, SEPTIN14P23, CSPG4P1Y). Во второй группе (*USP9Y*, *DDX3Y*, *KDM5D*), гены имеют от 16 до 43 интронов, меньшее межгенное расстояние до близлежащих белок-некодирующих генов и меньший набор днРНК в интронах и межгенном пространстве: у гена *USP9Y* — 1 (ENSG00000286009); у гена *DDX3Y* — 1 (RN7SL702P); у гена *KDM5D* — 2 (ENSG00000260197, ENSG00000288049). Анализ данных РНК секвенирования, взятый из 24 тканей, выявил, что подавляющее большинство (около 80%) длинных межгенных некодирующих РНК (lincRNA) показывают тканеспецифичные паттерны экспрессии, в то время как такие паттерны экспрессии наблюдались лишь в 20% белок-кодирующих генов (Moran N. Cabili, 2011). Определение интегральных закономерностей между первичной структурой белок-кодирующих генов, lincRNAs-генов и их активности в различных тканях является ключом к пониманию алгоритмов организации генома и поиску регуляторных агентов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания в сфере научной деятельности № 0852-2020-0028.

А. А. Буракова, О. И. Добыш

МЕТИЛИРОВАНИЕ CpG-САЙТОВ, ДОСТОВЕРНО АССОЦИИРОВАННЫХ С ВОЗРАСТОМ ЧЕЛОВЕКА, В ДНК СПЕРМЫ

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: a.burakova@igc.by

Определение возраста человека с использованием методов молекулярной генетики нашло свое признание и применение среди криминалистов для идентификации личности. Самым распространенным способом расчета количества лет индивидуума является измерение уровня метилирования отдельных возраст-зависимых CpG-сайтов ДНК, который часто называют «эпигенетическими часами». Большинство работ по прогнозированию эпигенетического возраста базируются в основном на различных типах соматических клеток, в том числе и мультитканевые исследования. Вместе с тем сообщения о предикторах возраста для спермы на сегодняшний день немногочисленны. Вследствие того, что характер возрастных изменений значений метилирования ДНК сперматозоидов противоположен тому, что обычно наблюдается в соматических клетках, невозможно использовать CpG-сайты, которые подходят для венозной крови или буккального эпителия для определения возраста по образцам спермы.

Целью данной работы является выявление степени метилирования пяти CpG-сайтов, которые достоверно ассоциированы с возрастом человека для образцов спермы, у 467 мужчин, проживающих на территории Республики Беларусь. В исследование были включены известные по данным литературы CpG-сайты cg12837463, cg06979108 и cg06304190, уровень метилирования которых зависит от возраста индивида. CpG-сайт cg06979108 находится между генами *FOLH1B* и *NOX4*, которые кодируют фолатгидролазу 1В и каталитическую субъединицу НАДФН-оксидазного комплекса. CpG-сайт cg06304190 располагается между генами повторного домена тетратрикопептида 7В *TTC7B* и рибосомальной протеинкиназы S6A5 *RPS6KA5*. CpG-динуклеотид cg12837463 лежит рядом с геном фактора транскрипции Т-бокса 20 *TBX20*. Нами на основании данных, представленных в открытом доступе на платформе GEO NCBI для проектов по определению полногеномного профиля метилирования ДНК, были определены два CpG-сайта (cg13014709 и cg04123357) с высокими значениями линейной зависимости между уровнем метилирования и хронологическим возрастом человека для образцов спермы. CpG-сайт cg13014709 находится рядом с геном циклин-зависимой киназы 4 *CDK4*, а cg04123357 располагается в 39 экзоне гена коллагена 18 типа *COL18A1*.

Среди исследованных CpG-динуклеотидов значение среднего уровня метилирования (выраженного в %) оказалось максимальным для cg04123357 (70,0%), а минимальным — cg13014709 (7,95%). Наибольший диапазон значений (разница между максимальными и минимальными значениями) был показан для CpG-сайта cg04123357 — 57,4%, минимальный — для cg13014709 (20,14%). Коэффициенты корреляции R с увеличением возраста расположились в следующем порядке: cg13014709 (–0,497), cg12837463 (–0,452), cg06979108 (–0,446), cg04123357 (0,276) и cg06304190 (0,242). С использованием множественной линейной регрессии создана модель для предсказания возраста индивида, основанная на анализе метилирования пяти CpG-динуклеотидов.

Таким образом, было показано, что пять выбранных CpG-сайтов обладают достаточно высоким прогностическим потенциалом для определения возраста индивида в белорусской популяции.

В. М. Веремейчик

ВНЕЛЭДДЕРНЫЕ ВАРИАНТЫ АЛЛЕЛЕЙ АУТОСОМНЫХ STR-ЛОКУСОВ У НАСЕЛЕНИЯ БЕЛАРУСИ

*Государственный комитет судебных экспертиз Республики Беларусь
Республика Беларусь, 220073, Минск, ул. Кальварийская, 43
e-mail: csbl@sudexpert.gov.by*

Локусы с короткими tandemными повторами (STR) из-за их высокого дискриминирующего потенциала и простоты в использовании получили широкое распространение в экспертной практике.

Аллельные варианты STR-локусов в образцах, амплифицированных с использованием коммерческих наборов, определяются путем сравнения размера полученного ампликона с размерами аллельных маркеров (аллельный лэддер; аллельная «лестница» — искусственно синтезированная смесь фрагментов ДНК, в которой представлены все или множество наиболее часто встречающихся аллельных вариантов исследуемых локусов), разработанных производителями и входящими в состав наборов. При этом иногда могут быть выявлены аллели за пределами диапазона аллельного лэддера или отличающиеся по длине от маркера лэддера — в таком случае их называют внелэддерными аллелями (off ladder — OL-аллели). Некоторые из них короче или длиннее аллельного лэддера на один или несколько полных tandemных повторов, а другие отличаются по длине только на 1 или 2 п. н. (микровариант).

В ходе проведенного исследования было проанализировано 19 390 полных генетических профилей, полученных в Государственном комитете судебных экспертиз Республики Беларусь при амплификации образцов ДНК в 2014–2015 гг. с использованием набора для генотипирования GlobalFiler™ PCR Amplification Kit (21 аутосомный STR-локус; $n = 11\,230$) и в 2017 г. — с использованием набора VeriFiler™ Express PCR Amplification Kit (23 аутосомных STR-локуса; $n = 8\,160$). Выявленные внелэддерные варианты идентифицировались с помощью метода экстраполяции по стандартной формуле, учитывающей различия размеров (в п. н.) между соответствующими аллельными вариантами образца и лэддера.

В общей сложности в 18 из 24 STR-локусов было выявлено 3 293 OL-аллеля, что составило 8,49% исследованной выборки. При этом было обнаружено 111 различных вариантов OL-аллелей, 11 из которых не были ранее описаны в реестре STRBase (<http://www.cstl.nist.gov/biotech/strbase>). Интересно, что 7 из них были выявлены в локусе SE33, что может объясняться высоким уровнем его полиморфизма ($PD = 0,9955$).

Среди 111 вариантов OL-аллелей 10 были расположены за пределами диапазонов длин аллелей коммерческого аллельного лэддера и встретились в 9 локусах (D1S1656, D10S1248, D12S391, D22S1045, D2S1338, D5S818, D7S820, D16S539, Penta D), а 101 — внутри этого диапазона и были выявлены в 15 локусах. Наиболее распространенными вариантами OL-аллелей в данном исследовании были аллели «17,3» (с популяционной частотой 1,38%) и «18,3» (1,52%) в локусе D12S391, а также аллели «21,2» (0,34%), «22,2» (1,11%) и «23,2» (0,83%) в локусе FGA и аллель «22» в локусе SE33 (1,01%).

При проведении судебной генетической экспертизы необходимо учитывать возможность выявления редких аллельных вариантов, необходимость их правильной интерпретации и проведения адекватного вероятностно-статистического анализа таких случаев. В связи с этим в современном экспертном сообществе важную роль приобретает обмен информацией о выявленных внелэддерных аллельных вариантах и их распространенности в различных популяционных группах.

И. М. Голоенко¹, В. Г. Объедков², Т. С. Голубева², Т. В. Докукина², А. В. Ходжаев²

ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ В АНТИПСИХОТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ. ФАРМАКОГЕН CYP2D6

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси

Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27

e-mail: cytoplasmic@mail.ru

²ГУ РНПЦ психического здоровья МЗ

Республика Беларусь, 220053, Минск, Долгиновский тракт, 152

e-mail: polak0208@mail.ru

Стандартное дозирование антипсихотических препаратов может привести к их повышенным концентрациям в плазме и даже токсическим реакциям у пациентов, имеющих медленный тип метаболизма. CYP2D6 — наиболее хорошо изученный фермент семейства цитохромов, метаболизирующий 25% всех лекарственных препаратов и 80% антипсихотиков и антидепрессантов. Ген этого фермента является пока единственным обозначенным в фармакогенетической базе PharmGKB международным фармакогенетическим сообществом фармакогеном для генетического тестирования при антипсихотической терапии. 23,5% европейского населения являются носителями наиболее распространенного аллеля *CYP2D6*4* данного гена и имеют риск снижения метаболизма по меньшей мере для 48 препаратов, в том числе антипсихотиков и антидепрессантов, имеющих субстрат CYP2D6.

По результатам наших предыдущих исследований по полиморфному локусу гена *CYP2D6*4* носительство мутантного гомозиготного генотипа *AA* увеличивает риск развития акатизии более чем в 2 раза, носительство аллеля *A* в 2 раза увеличивает риск паркинсонизма, вероятность тяжелого исхода шизофрении также более чем в 2 раза увеличивается у пациентов с генотипами *AA* и *AG*. Однако принятие решения о назначении тестирования для выбора антипсихотиков в условиях клинической практики затруднительно, так как не может заранее проводиться у всех пациентов и быть, в свою очередь, абсолютной гарантией отсутствия осложнений и эффективности терапии. Чтобы увеличить вероятность предикции побочных эффектов и обоснованность коррекции дозирования, в данном анализе поставлена цель: обозначить группу пациентов, для которых в условиях клинического стационара, как показано раньше, значительно повышен риск токсических реакций и частой госпитализации.

Исследования, проведенные совместно с РНПЦ Психического здоровья, позволили выделить пациентов-носителей гомозиготного генотипа риска *AA* по локусу *CYP2D6*4* в отдельную группу как в первую очередь нуждающихся в мониторинге при назначении антипсихотической терапии. Из 281 пациента с шизофренией 10 пациентов (3,6%, 7 мужчин и 3 женщины) имело гомозиготный генотип *AA*. У 8 из них диагностированы экстрапирамидные осложнения, причем у 3 не менялась доза антипсихотика в процессе терапии, у 4 доза увеличивалась, у 1 пациента — уменьшалась. Для 7 человек из этой группы в разной степени отмечен отказ от сотрудничества при лечении. Данная группа пациентов выделена из части общего числа пациентов, проходивших лечение в стационаре, и требует углубленного анализа рисков в проспективном исследовании. Однако очевидно, что в каждом отделении стационара необходимо проводить мониторинговое генотипирование. Необходимо выделять и изучать группы пациентов с частой госпитализацией и нежелательными лекарственными реакциями по-возможности по нескольким популяционно значимым локусам фармакогенов антипсихотической терапии с целью сокращения риска осложнений, резистентности и экономии бюджетных средств, затрачиваемых при частой госпитализации, а также отработки алгоритмов использования генетического тестирования в медицинской практике.

А. А. Гусина¹, Н. Б. Гусина¹, С. Н. Пашук¹, А. В. Зиновик¹, Н. В. Румянцева¹,
Е. А. Калинина¹, И. Н. Мотюк², А. С. Бойша³, С. О. Мясников¹, М. И. Колыбенко⁴,
А. И. Кульпанович¹

РЕДКИЕ ФЕНОТИПЫ: НАСЛЕДСТВЕННЫЕ НАРУШЕНИЯ ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЯ

¹Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя»
Республика Беларусь, 220053, г. Минск, ул. Орловская, 66
e-mail: asya.gusina@mail.ru

²УЗ «Гродненский областной клинический перинатальный центр»,
Республика Беларусь, 230009, г. Гродно, ул. Максима Горького, 77

³УЗ «Могилёвский областной лечебно-диагностический центр»
Республика Беларусь, 212030, г. Могилев, ул. Первомайская, 59а

⁴УЗ «Гомельский областной диагностический центр с консультацией «Брак и семья»
Республика Беларусь, 246022, г. Гомель, ул. Кирова, 57

Введение. Наследственные нарушения гликозилирования (CDG-синдромы) включают заболевания, причиной которых являются дефекты ферментов, осуществляющих N- и O- гликозилирование белков, синтез долихола, гликозилфосфатидилинозитола, дегликозилирование белков. Клинические проявления CDG-синдромов включают дисморфии, специфические изменения кожи и подкожной клетчатки, симптомы поражения нервной системы, глаз, скелета, сердечно-сосудистой, пищеварительной, эндокринной, выделительной, кроветворной и иммунной систем.

Цель работы. Представить многообразие клинических проявлений и трудности диагностического поиска при наследственных нарушениях гликозилирования.

Материалы и методы. Поиск биохимических маркеров нарушенного гликозилирования (НГ) был выполнен 120 пациентам с диагнозом неуточненного нарушения обмена веществ. Для проведения биохимических исследований использовали сыворотку крови. Образцы ДНК лиц, у которых были обнаружены признаки НГ, с целью установления нозологического диагноза, были исследованы методами высокопроизводительного секвенирования и секвенирования по Сэнгеру.

Результаты. Признаки НГ были обнаружены у 8 из 120 обследованных пациентов. У 2 девочек из 2 неродственных семей были выявлены мутации в гене *PMM2*: p.Gly57Arg/p.Agr141His и p.Val67Met/p.Cys9AlafsTer27, и установлен диагноз PMM2-CDG. У четырех детей из двух неродственных семей по результатам молекулярно-генетического исследования был диагностирован ALG1-CDG: 3 умерших детей из 1 семьи оказались носителями патогенных вариантов p.Ser258Leu/p.Phe394Leu, у 1 ребенка были идентифицированы мутации p.Glu288GlyfsTer23/p.Thr261Ala в гене *ALG1*. У всех 6 детей наблюдались характерные симптомы CDG-синдромов I типа. У 2 детей были установлены чрезвычайно редкие заболевания: синдром Саула-Вильсона вследствие мутации p.Gly516Arg в гене *COG4* в гетерозиготном состоянии у ребенка с фенотипом системной скелетной дисплазии и сиалурия, обусловленная гетерозиготной мутацией p.Arg297Gln в гене *GNE*, у пациента с грубыми чертами лица, гепатомегалией и повышенной концентрацией свободных сиаловых кислот в крови.

Заключение. CDG-синдромы I типа (PMM2-CDG и ALG1-CDG в данном наблюдении) имеют характерный, распознаваемый фенотип, который часто остается неузнанным ввиду редкости и недостаточной осведомленности врачей о наследственных нарушениях гликозилирования. Свидетельства в пользу наличия маркеров НГ при синдроме Саула-Вильсона и сиалурии получены авторами впервые. Поиск биохимических маркеров НГ целесообразно выполнять всем пациентам при проведении обследования в отношении наследственных болезней обмена веществ.

М. Ид, Н. П. Милютина, Т. П. Шкурят

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА *OXTR* С ДЕПРЕССИЕЙ: МЕТААНАЛИЗ

Академия биологии и биотехнологии, Южный Федеральный Университет (ЮФУ)
Российская Федерация, 344090, г. Ростов-на-Дону, просп. Стачки, 194/1
moez1995.mae@gmail.com

Депрессия является одним из наиболее распространенных психических расстройств, вызывающих нарушения в нескольких областях повседневной жизни. Этиология депрессии остается невыясненной. Считается, что депрессивные расстройства являются результатом взаимодействия множества генов с факторами окружающей среды.

Окситоцин играет ключевую роль в регуляции эмоций, социального взаимодействия и реакции на стресс. Окситоцин оказывает свое действие на клетку посредством взаимодействия с геном рецептора окситоцина (*OXTR*), рецептором, связанным с G-белком, который при связывании лиганда передает сигнал в ядро.

Среди различных однонуклеотидных полиморфизмов (SNPs) гена рецептора окситоцина (*OXTR*), *rs53576* неоднократно изучался для оценки его ассоциации с депрессией в разных группах, но результаты были противоречивыми.

Целью настоящего исследования было оценить ассоциации между полиморфизмом *OXTR* (*rs53576*) и депрессией с использованием метаанализа.

В четырех базах данных (PubMed, Springer Link, Science direct и Google Scholar) был проведен поиск исследований случай-контроль с использованием ключевых слов («*OXTR*», «Polymorphism», «*rs53576*» и «Depression»). Метаанализ проводился по протоколу PRISMA. Всего в исследование было включено 10 подходящих исследований, включая 1 024 случая и 3 311 контролей. Включенные статьи должны были соответствовать следующим критериям: опубликованные исследования случай-контроль; наличие данных для расчета отношения шансов с доверительным интервалом; изучение ассоциации между полиморфизмом *OXTR* (*rs53576*) и депрессией.

P-значение, отношение шансов (OR) и 95% доверительный интервал (95% CI) были рассчитаны для оценки ассоциации риска депрессии с полиморфизмом *OXTR* (*rs53576*) в рамках доминантной и рецессивной генетических моделей. Статистически значимые P-значения считались $<0,05$. Обработка данных и построение графиков для оценки результатов производилось в программе RevMan 5.4.

Значительная ассоциация между полиморфизмом *OXTR* (*rs53576*) и риском депрессии была обнаружена в рецессивной генетической модели (OR = 1,28, 95% CI = 1,02–1,59, $p = 0,03$). В то же время метаанализ в доминантной генетической модели не показал ассоциации между риском депрессии и изучаемым полиморфизмом (OR = 1,01, 95% CI = 0,87–1,18, $p = 0,87$).

Противоречащие результаты отдельных исследований в разных популяциях и метаанализа позволили предположить, что роль полиморфизма *OXTR* (*rs53576*) в предрасположенности к депрессии может зависеть от этнических или географических факторов. Необходимо провести дальнейшие исследования для оценки ассоциации между полиморфизмами *OXTR* и риском депрессии в различных популяциях и этнических группах.

Е. М. Квиткова¹, Х. З. Турсунов², Р. С. Мухамедов³

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ, МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ ИНИЦИАЦИИ И ПРОГРЕССИРОВАНИЯ КОЛОРЕКТАЛЬНЫХ ПОЛИПОВ

¹ГУ «Узбекский институт стандартов» при Агентстве по техническому регулированию
Республика Узбекистан, 100059, г. Ташкент, ул. Чупонота, 9 В
e-mail: elena.m.kvitkova@gmail.com

²Республиканский патологоанатомический центр МЗ РУз
Республика Узбекистан, 100109, г. Ташкент, ул. Ф. Ходжаева, 11

³Институт Биоорганической химии АН РУз
Республика Узбекистан, 100170, г. Ташкент, просп. Мирзо Улугбека, 83

Выявление специфических морфологических признаков, ассоциированных с клинически значимыми изменениями гена *APC*, представляет ценность для более точной диагностики, прогностической стратификации, выбора таргетной терапии семейного аденоматозного полипоза (САП) и колоректального рака.

В предыдущих работах [Е. М. Kvitkova, 2019, 2021], нами были представлены данные о наследственных мутациях в гене аденоматозного полипоза кишки (*APC*) при колоректальных полипах, однако в анализ не были интегрированы клинические и морфологические характеристики опухолей.

В настоящей работе представлены результаты изучения ассоциаций между изменениями гена *APC* при колоректальных полипах, охарактеризованных в рамках наших исследований, и клинико-морфологическими особенностями этих опухолей.

Исследуемую группу составили 33 пациента с клиническими признаками САП, ДНК которых были выделены из периферической крови и подвергнуты секвенированию кодирующих регионов гена *APC*. Морфологические данные, полученные из биопсийного и операционного материала этих пациентов, включали оценку следующих критериев: размер ($\leq 0,5$ / $\geq 0,5$ мм), локализацию, степень дисплазии и малигнизации полипов. Оцениваемые клинические признаки включали: возраст при постановке диагноза (младше 45 лет / старше 45), наличие внекишечных опухолей, гендерную принадлежность. Клинические и морфологические признаки проанализированы в корреляции с наследственными изменениями гена *APC*. Анализ был выполнен в двух группах, стратифицированных в соответствии с мутационным статусом *APC*: 1 – положительный, 2 – отрицательный. Группа с мутациями включала наследственные точковые не синонимичные изменения гена *APC*. Критерии оценки также включали молекулярный эффект различных типов точковых мутаций *APC*. В частности, была оценена частота мутаций: (а) со сдвигом рамки считывания / нонсенс, (б) миссенс, в корреляции с вышеуказанными морфологическими признаками озлокачествления полипов.

Проведенный анализ показал существование статистически значимой связи между «положительным мутационным статусом *APC*» и малигнизацией аденомы ($p = 0,01$). Пациенты с наследственными мутациями в гене *APC* (48,4%, 16/33) имели значительно более высокую частоту дисплазии и малигнизации полипов (75% против 25%). В группе пациентов без мутации в гене *APC* (17/33) напротив, выше частота полипов без признаков малигнизации (71% против 29%).

Аналогично, пациенты с «положительным мутационным статусом *APC*» (16/33) определены преимущественно в возрастной группе младше 45 лет (75%, 12/16) по сравнению с группой старше 45 лет позитивных по мутации *APC* (25%, 4/16). Однако эта взаимосвязь не достигла достоверного уровня ($p = 0,1$).

Также нами отмечена тенденция, при которой мутации со сдвигом рамки считывания, либо нонсенс связаны с полипами с дисплазией и малигнизацией. Мутации миссенс выявлены у пациентов как с аденоматозными полипами на разных стадиях прогрессирования опухоли, так и без признаков озлокачествления ($p = 0,2$).

Е. В. Кобец¹, Е. П. Янчук¹, О. В. Шибeko¹, П. М. Морозик¹, Э. В. Руденко²,
Е. В. Руденко³, О. Ю. Самоховец³

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ, СВЯЗАННЫЕ СО СНИЖЕННОЙ МИНЕРАЛЬНОЙ ПЛОТНОСТЬЮ КОСТНОЙ ТКАНИ И РЕВМАТОИДНЫМИ ПРОЯВЛЕНИЯМИ

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси

Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27

e-mail: kobets.kaysaryna@gmail.com

²Белорусский государственный медицинский университет

Республика Беларусь, 220116, г. Минск, проспект Дзержинского, 83, корп. 1

³Белорусская медицинская академия последипломного образования

Республика Беларусь, 220013, г. Минск, ул. П. Бровки, 3, корп. 3

Ревматоидный артрит (РА) способствует увеличению риска развития остеопении и остеопороза (ОП), особенно вследствие приема некоторых противоревматических препаратов. Оценка вероятности снижения минеральной плотности костной ткани (МПКТ) среди пациентов с РА позволит скорректировать лечение и избежать последствий, отягчающих течение заболевания.

Целью данного исследования было выявить наиболее значимые полиморфные варианты генов у пациентов с совместным течением ОП и РА для оценки предрасположенности к снижению МПКТ.

Материалы и методы. В исследование были включены 236 человек (128 контрольной группы с нормальной МПКТ и без РА, а также 108 пациентов с одновременным снижением МПКТ и РА). Лица, включенные в исследование, проходили амбулаторное обследование в «Минском городском центре остеопороза и болезней костно-мышечной системы» и ревматологическом отделении 1-й Минской городской больницы (Беларусь), все участники подписали информированное согласие. Генетические исследования проводили методом ПЦР в реальном времени следующих полиморфных вариантов генов: *ESR1* rs1801132, *PRL* (rs7739889), *IL6* (rs1800795), *CALCR* (rs1801197).

Результаты и обсуждения. По результатам генотипирования нами выявлено, что у носителей генотипа C/C для rs1801132 гена *ESR1* уровень МПКТ шейки бедра статистически значимо ниже в группе пациентов ($0,76 \pm 0,01$) по сравнению с контролем ($1,02 \pm 0,01$, $p = 0,048$). Также была установлена ассоциация генотипа A/A варианта rs7739889 гена *PRL* со сниженной МПКТ шейки бедра в группе пациентов ($0,77 \pm 0,02$) относительно контрольной группы ($1,12 \pm 0,13$, $p = 0,033$).

Аналогичная ассоциация установлена для генотипа A/A варианта rs1801197 гена *CALCR* и генотипа rs1800795 C/C гена *IL6* — они также статистически значимо ассоциированы со снижением МПКТ шейки бедра ($0,76 \pm 0,01$ и $0,77 \pm 0,02$ у пациентов против $1,03 \pm 0,02$ в контрольной группе, $p = 0,025$ и $p = 0,038$, соответственно).

Выводы. Анализ результатов генотипирования пациентов с РА позволил установить достоверную ассоциацию с вероятностью снижения костной массы следующих полиморфных вариантов: rs1801132 C/C (*ESR1*), rs7739889 A/A (*PRL*), rs1801197 A/A (*CALCR*), rs1800795 C/C (*IL6*). При этом для исследованных полиморфных вариантов не было выявлено статистически значимых различий между исследуемыми группами в уровнях МПКТ поясничного отдела позвоночника.

И. Д. Кужель¹, О. В. Прибушеня², И. В. Наумчик², И. В. Курлович², Н. И. Рябоконе¹

ОЦЕНКА ДВУНИТЕВЫХ РАЗРЫВОВ ДНК В СПЕРМИЯХ ПРИ ПОНИЖЕННОЙ МУЖСКОЙ ФЕРТИЛЬНОСТИ

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: i.hileuskaya@igc.by

²РНПЦ «Мать и дитя»
Республика Беларусь, 220053, г. Минск, ул. Орловская, 66
e-mail: belgenetics@yahoo.com

Двунитевые разрывы молекулы ДНК являются самыми грубыми нарушениями целостности генома как соматических, так и половых клеток. Имеются данные, свидетельствующие о том, что двунитевые разрывы ДНК сперматозоидов приводят к гибели зиготы до и после имплантации, а также могут негативно влиять на качество эмбриона. Тем не менее накоплено ограниченное количество данных по двунитевым разрывам в связи с мужской фертильностью. Целью представленного исследования было изучение двунитевых разрывов ДНК в спермиях мужчин с нормозооспермией и патозооспермией и оценка их значимости для диагностики мужской фертильности.

Работа выполнена с использованием коллекции образцов спермы, хранящейся в Республиканском банке ДНК человека, животных, растений и микроорганизмов. Всего изучено 78 образцов от пациентов с нормо- и патозооспермией. Уровни двунитевых разрывов анализировали с использованием нейтральной версии метода ДНК-комет (рН = 7,5), а общую поврежденность ДНК одно- и двунитевыми разрывами, апуриновыми-апирииминовыми сайтами и модифицированными основаниями ДНК — с применением щелочной версии метода ДНК-комет (рН ≥ 13), рекомендованной Всемирной организацией здравоохранения для диагностики мужской фертильности. Обе версии ДНК-комет учитывают соответствующие повреждения как фрагментацию ДНК и позволяют анализировать частоту клеток с повреждениями ДНК (индекс фрагментации), а также нагруженность каждой клетки повреждениями ДНК (уровни фрагментации ДНК).

В ходе проведенного исследования дано первичное описание уровней двунитевых разрывов ДНК при нормо- и патозооспермии. Установлена неожиданно высокая доля двунитевых разрывов ДНК (в среднем около 44–50%) в общем пуле повреждений ДНК, изученных с использованием щелочной версии ДНК-комет в спермиях мужчин с нормо- и патозооспермией. У пациентов с патозооспермией нагруженность клеток двунитевыми разрывами, а также количество спермиев с этим типом повреждений ДНК оказалась в 4–7 раз выше по сравнению с нормозооспермией. При этом статистическая значимость наблюдаемых различий достигала больших величин (U test, $p = 2,3 \times 10^{-8}$ и $p = 2,7 \times 10^{-8}$ соответственно для уровня повреждений ДНК и индекса фрагментации).

Предварительный анализ зависимости «концентрация–эффект» для двунитевых разрывов ДНК после обработки *in vitro* сульфатом блеомицина образцов спермы с нормозооспермией показал, что при патозооспермии количество двунитевых разрывов соответствует уровню, индуцированному высокими концентрациями (10–30 мкг/мл) этого мутагена, индуктора двунитевых разрывов, используемого в качестве радиомиметика.

Таким образом, нами получены данные, которые свидетельствуют о высокой нагруженности сперматозоидов мужчин двунитевыми разрывами ДНК, особенно в образцах спермы пациентов с патозооспермией, а также о возможности использования двунитевых разрывов для диагностики мужской фертильности.

Работа выполнена в рамках задания 2.2.5 ГПНИ «Биотехнологии-2» (2021–2023 гг.).

О. В. Лянгасова

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *LHCGR* С ЭФФЕКТИВНОСТЬЮ ПРОГРАММ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ

*Южный федеральный университет
Российская Федерация, 344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки 194/1
e-mail: oll@sfedu.ru*

Бесплодие является глобальной проблемой, затрагивающей миллионы людей репродуктивного возраста во всем мире. Гормоны гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси играют ключевую роль в поддержке репродуктивной функции, в том числе лютеинизирующий гормон (ЛГ) необходим для созревания ооцитов, а хорионический гонадотропин человека (ХГЧ) играет ключевую роль в стимулировании имплантации и предотвращении отторжения плода. Оба гормона являются лигандами одного рецептора, поэтому целью исследования был поиск ассоциации полиморфизма гена рецептора ЛГ/ХГЧ с эффективностью программ экстракорпорального оплодотворения (ЭКО).

В исследовании приняли участие 163 бесплодные женщины, проходящие терапию в рамках программ ЭКО в «Центре репродукции и ЭКО» (г. Ростов-на-Дону, Россия). Все женщины дали письменное информированное согласие. Для исследования были отобраны женщины с первой попыткой ЭКО, нормальным менструальным циклом, нормальными базальными уровнями фолликулостимулирующего и антимюллерова гормонов. Для всех пациенток использовали короткий протокол с антагонистом гонадотропин-релизинг гормона. Для проведения молекулярно-генетических исследований использовали цельную кровь. ДНК выделяли из лейкоцитов термокоагуляционным методом. Анализ ДНК на наличие полиморфизма гена *LHCGR* с.935A >G проводили методом аллель-специфичной ПЦР в реальном времени.

Проведено исследование распределения генотипов по полиморфизму гена рецептора ЛГ/ХГЧ *LHCGR* с.935A > G среди бесплодных женщин города Ростова-на-Дону. Частота генотипов соответствовала распределению Харди-Вайнберга и составила: AA — 8,6% (14/163), AG — 52,1% (85/163), GG — 39,3% (64/163). Для исследования ассоциации полиморфизма *LHCGR* с.935A > G с эффективностью программ ЭКО выборка пациентов была стратифицирована по степени овариального ответа и по факту наступления/ненаступления беременности. Статистически значимых различий получено не было, однако в обоих случаях была выявлена тенденция к ассоциации генотипа *LHCGR* 935GG с низким овариальным ответом (менее 10 фолликулов) на гормональную гиперстимуляцию ($\chi^2 = 8,265$; $p = 0,083$; OR (95% CI) = 2,14 (1,12–4,08)) и с более высокой вероятностью наступления беременности ($\chi^2 = 5,543$; $p = 0,063$; OR (95% CI) = 1,84 (1,01–3,35)).

Исследование выполнено на оборудовании ЦКП «Высокие технологии» ЮФУ при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания в сфере научной деятельности № 0852-2020-0028.

О. Ч. Мазур¹, С. В. Байко², Е. П. Михалеко¹, И. Н. Андреева¹, А. В. Кильчевский¹

РЕДКАЯ МУТАЦИЯ ГЕНА *EYA1* У ПАЦИЕНТА С БРАНХИО-ОТО-РЕНАЛЬНЫМ СИНДРОМОМ

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси

Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27

e-mail: o.mazur@igc.by

²УО «БГМУ»

Республика Беларусь, 220116, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83

Среди всех внутриутробных аномалий плода около 25% составляют врожденные аномалии развития почек и мочевых путей (ВАМП). Мутации в генах факторов транскрипции, таких как *PAX2*, *EYA1* и *SALL1*, приводят к возникновению синдромальных ВАМП с экстраренальными проявлениями. Ген *EYA1* в высокой степени экспрессируется в почках эмбрионов человека, а мутации в данном гене являются причиной возникновения БОР-синдрома (бранхио-ото-ренального синдрома). Это редкое аутосомно-доминантное заболевание, для которого характерны нарушения развития жаберной дуги с сохранением шейных свищей и кист, аномалии органов слуха (мальформации ушной раковины с преаурикулярными ямками, тугоухость) и аномалиями развития почек — от гипоплазии до двусторонней агенезии, которые позднее могут прогрессировать до терминальной хронической почечной недостаточности.

Ген *EYA1* состоит из 17 экзонов и кодирует белок из 559 аминокислот. Экзоны с 9 по 16 кодируют высококонсервативный домен из 271 аминокислоты, гомологичную область гена *eya* (*eyaHR*), где было обнаружено большинство мутаций бранхио-отического и БОР-синдрома. Известно, что *EYA1* подвержен эффекту дозы гена, когда количество кодируемого белка определяет развитие жаберной дуги, уха и почки. Это объясняет различия фенотипов среди пациентов с БОР-синдромом в одной семье.

В исследование включен 4-летний ребенок с фенотипическими проявлениями БОР-синдрома. У ребенка имеются множественные врожденные пороки развития — ВАМП (кистозно-гипопластическая дисплазия обеих почек), недоразвитие ушных раковин, преаурикулярные ямки, свищи от жаберных щелей на шее.

Выполнено молекулярно-генетическое исследование с целью поиска патогенных вариантов генов, ассоциированных с основным заболеванием. Исследовалась геномная ДНК, выделенная из венозной крови методом фенольно-хлороформной экстракции с использованием протеиназы К. Далее проводилось высокопроизводительное секвенирование на приборе Illumina NextSeq 550. Для экзомного обогащения использовалась панель xGen Exome Hyb Panel v2 (IDT). Биоинформатический анализ полученных данных проводился при помощи облачной платформы BaseSpace Hub (Illumina) с обработкой в алгоритме DRAGEN. Аннотация вариантов проводилась с помощью онлайн-ресурса wANNOVAR.

При полноэкзомном поиске обнаружена мутация в зоне акцептора сплайсинга гена *EYA1* в позиции последнего нуклеотида 12 интрона перед 13 экзоном с.1361-1G > T. Согласно базе данных ClinVar данная мутация гена является патогенной (id: 48102), поскольку выявленная нуклеотидная замена располагается в инвариантной области консенсусной последовательности сплайсинга. Вследствие этого происходит выпадение 13 экзона, кодирующего высококонсервативный домен, что приводит к образованию аномального белкового продукта.

В настоящее время проводится подтверждение выявленной мутации гена *EYA1* методом прямого секвенирования по Сенгеру и генетическое тестирование родителей для уточнения характера наследования данной мутации.

О. М. Малышева¹, Е. П. Михаленко¹, О. Ч. Мазур¹, М. В. Артюшевская²,
А. В. Кильчевский¹

АНАЛИЗ ГЕНОВ-КАНДИДАТОВ РАЗВИТИЯ РЕТИНОПАТИИ НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПОЛНОЭКЗОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: o.malysheva@igc.by

²Белорусская академия последипломного образования
Республика Беларусь, 220013, г. Минск, ул. П. Бровки, 3, корпус 3

Ретинопатия недоношенных (РН) — заболевание глаз, вызванное аномальным развитием кровеносных сосудов сетчатки у недоношенных детей. Тяжелая форма РН может привести к отслоению сетчатки, слабосвидению, слепоте. Большому риску подвергаются младенцы весом менее 2 000 граммов, родившиеся до 34 недели беременности. К другим факторам риска, связанным с наличием РН, относятся длительное проведение респираторной поддержки, колебания оксигенации, синдром дыхательных расстройств (СДР), сепсис, плохой постнатальный рост, внутрижелудочковое кровоизлияние, анемия и др.

Несмотря на то, что в Республике Беларусь на долю РН среди офтальмологической патологии приходится около 1,5%, заболевание является одним из ведущих среди причин детской слепоты.

Поиск молекулярно-генетических факторов развития патологии позволит объяснить патогенез тяжелой РН, различия в прогрессировании заболевания у некоторых детей, несмотря на отсутствие у них клинических факторов риска, а также лучше выявлять и лечить младенцев с риском развития осложнений РН.

Необходимо проводить дифференциальную диагностику между фенотипически сходными семейной экссудативной витреоретинопатией (СЭВРП) и РН, требующими различной тактики лечения. Наиболее частыми причинами развития СЭВРП (аутосомно-доминантный и аутосомно-рецессивный тип наследования) являются мутации в генах *FZD4*, *LRP5*, *TSPAN12*, *NDP*, *ZNF408*. Предполагается, что изменения в этих генах могут влиять на прогрессирование РН.

Исследован генетический материал 34 недоношенных новорожденных со сроком гестации 25–33 недели, весом 530–2 340 г. с РН различной степени тяжести. Оперативное лечение проведено у 12 новорожденных. У 18 детей отмечалось наличие осложнений в виде бронхолегочной дисплазии, у 5 — сепсиса, практически у всех — тяжелого течения СДР. Полноэкзомное секвенирование выполнено с использованием панели Nextera DNA Exome на платформе NextSeq 500 (Illumina).

У 6 недоношенных новорожденных выявлено 6 нуклеотидных замен в генах *FZD4* и *LRP5* с частотой встречаемости минорного аллеля менее 0,8% по базе данных ExAc. Обнаружены несинонимичные гетерозиготные варианты неопределенного значения патогенности с.304T > A (p.Y102N, rs886048735) и с. 1128G > T (p.L376F, rs773474310) в гене *FZD4*, и гетерозиготная делеция без сдвига рамки считывания с.33_41del (p.11_14del, rs72555376) в гене *LRP5*. Выявлены 3 гетерозиготные миссенс-замены с неоднозначной интерпретацией патогенности с.766A > G (p.I256V, rs104894223) и с.76C > A (p.Q26K, rs140601725) в гене *FZD4*, и с.4574C > T (p.A1525V, rs1127291).

Гены *FZD4*, *LRP5* кодируют белки лиганд-рецепторного комплекса передачи сигналов норин/β-катенин сигнального пути, который участвует в активации васкуляризации сетчатки. Предполагается, что обнаруженные замены могут увеличивать риск развития и тяжесть течения ретинопатии недоношенных.

В. В. Маринич, Н. В. Шепелевич

ПСИХОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НЕЙРОТИЗМА У СПОРТСМЕНОВ-ЮНИОРОВ В ПРЕДСОРЕВНОВАТЕЛЬНЫЙ ПЕРИОД ПОДГОТОВКИ

*Полесский государственный университет
Республика Беларусь, 225710, г. Пинск, Днепровской флотилии, 23
vital4714@yandex.ru*

Цель исследования — определить значимые молекулярно-генетические маркеры среди полиморфизмов генов *5HTT*, *5HT2A* и *ACE*, ассоциированные с повышенным нейротизмом у спортсменов-юниоров.

Методы. Исследуемую группу составили спортсмены, занимающиеся биатлоном, академической греблей, синхронным плаванием и самбо (84 спортсмена). Используя метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), определяли полиморфизм генов L/S (*5HTT*), T102C (*5HT2A*) и Alu Ins/Del (*ACE*). Для изучения структуры личности спортсменов использовали опросник Г. Айзенка (EPQ).

Результаты и их обсуждение. Из 23-х спортсменов — биатлонистов, прошедших опросник EPQ, только у 3-х отмечены высокие значения по шкале «нейротизм». При этом именно у этих спортсменов выявлялись гетерозиготные генотипы по исследуемым полиморфизмам генов *5HTT*, *5HT2A* и гомозиготные генотипы по гену *ACE* (DD). Среди 24 протестированных спортсменов, специализирующихся в синхронном плавании, высокие значения по шкале «нейротизм» отмечались у 12 человек (средний балл = 21,33). Для них было характерно преобладание гетерозиготных генотипов по исследуемому полиморфизму гена *5HT2A*. По гену *ACE* отмечалась высокая частота генотипа DD и равное количество гомозиготных генотипов LL и SS гена *5HTT*. Среди спортсменов в академической гребле (19 человек), у 11 отмечены высокие значения по шкале «нейротизм», которые сочетались с носительством следующих генотипов: SS гена *5HTT*, TT гена *5HT2A*, DD гена *ACE*. В представленных данных по группе академической гребли отмечается повышение распространенности S-аллеля гена *5HTT*, что может негативно повлиять на переносимость нагрузок, особенно в условиях напряженной соревновательной деятельности. У атлетов в биатлоне отмечается достоверно более частая встречаемость аллеля C гена *5HT2A*. Носители аллеля T гена *5HT2A*, как правило, отличаются быстрым развитием усталости, перенапряжением центральных механизмов регуляции с риском снижения спортивного результата.

Выводы. Одним из элементов комплексной модели прогноза устойчивости к действию факторов риска перенапряжения спортсмена является определение уровня нейротизма. Умеренный уровень нейротизма — неизбежное качество в спортивных играх и спринтерских специализациях биатлона и плавания, оно не является лимитирующим результат. Высокий уровень нейротизма всегда повышает риск перенапряжения и перетренированности (модель неблагоприятного прогноза). Наличие у спортсменов аллелей D-ACE, S-5HTT, T-5HT2A способствует проявлению высокого уровня нейротизма. Высокая частота нейротических реакций у носителей данных аллелей требует коррекции, так как в неблагоприятных стрессовых ситуациях может способствовать развитию невроза в процессе напряженной спортивной деятельности. При регистрации эффекта эмоциональной неустойчивости рекомендовано корректировать учебно-тренировочный процесс с привлечением педагогических, медицинских (фармакологических) и психологических направлений в зависимости от результата диагностики и его динамики.

А. Ф. Мацукидис, О. Н. Антосюк

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРНЫХ УСЛОВИЙ ОНТОГЕНЕЗА *DROSOPHILA MELANOGASTER* НА ИЗМЕНЕНИЕ ГЕНОТОКСИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ

ФГАОУ ВО Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина
Россия, 620002, Г. Екатеринбург, ул. Мира, 19
e-mail: alexander.matsukidis@gmail.com

Частота онкологических заболеваний по всему миру представлена на достаточно высоком уровне, несмотря на активно ведущиеся в этом направлении исследования. Применяющиеся в настоящее время противоопухолевые препараты обладают, помимо основного эффекта действия, дополнительными негативными проявлениями, например, генотоксическими. Повышенная генотоксичность лекарственного препарата данного типа может приводить к процессам вторичного опухолеобразования. Кроме того, эффект, производимый противоопухолевыми препаратами, может изменяться при формировании синергизма с другими факторами воздействия. В данном исследовании использовали изменение температурных условий содержания *Drosophila melanogaster* (24, 26 и 28 °C) при выращивании на тестируемых питательных средах с внесением противоопухолевых препаратов метотрексат и этопозид (800 мкг/кг питательной среды).

В работе применяли следующие линии *D. melanogaster*: *mwh* (II), *flr* (SMART), *daughterless* (*daGal4*), *heat shock protein* (*hsp70*, *UAS-GFP*). Тестирование генетической активности этопозид (этопозид-ЛЭНС, veropharm, 200 мг/10 мл) и метотрексата (OZON фармацевтика, 2,5 мг) осуществлялось с помощью метода SMART (Somatic mutation and recombination test). В основе метода лежит действие изучаемого агента на геном активно делящихся клеток крылового имагинального диска личинки, гетерозиготной по рецессивным мутациям, маркирующим клетку крыла. Мутации локализованы на левом плече хромосомы 3 — *multi wing hairs* (*mwh*; 3 – 0,3) и *flare* (*flr*; 3 – 38,8), что позволяет выявлять у гетерозигот по этим локусам как мутационные, так и рекомбинационные события. Крыло *Drosophila melanogaster* содержит 24 400 клеток, расположенных в два слоя, и в норме каждая клетка крыла имеет одну ворсинку. Рекомбинационное или мутационное событие в клетке приводит к образованию мутантных пятен / клонов, видимых при микроскопическом анализе поверхности крыловой пластинки. У гибридных мух, полученных при скрещивании линий *Gal4* и *UAS* и выращенных в экспериментальных условиях, оценивали интенсивность флуоресценции GFP, производили фотосъемку и анализировали в программе ImageJ.

Согласно полученным данным, с повышением температуры онтогенеза дрозофилы генотоксичность противоопухолевых препаратов увеличивается.

Авторы выражают благодарность коллективу института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН за любезно предоставленные линии *D. melanogaster*.

Ю. А. Могулевцева^{1,2}, А. В. Мезенцев^{3,4}, С. А. Брускин^{2,3}

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА РНК-ИНТЕРФЕРЕНЦИИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ РОЛИ ММП9 В ПАТОГЕНЕЗЕ ПСОРИАЗА

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет» (МСХА им. К. А. Тимирязева)
Россия, 127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова» (ИОГен РАН)
Россия, 119333, г. Москва, ул. Губкина, 3

³Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии
Россия, 109029, г. Москва, Средняя Калитниковская ул. д. 30,

⁴Московский Государственный Университет Пищевых Производств ФГБОУ ВО «МГУПП»,
Россия, 125080, г. Москва, Волоколамское шоссе, 11
e-mail: mesentsev@yahoo.com

Матриксные металлопротеиназы играют важную роль в поддержании гомеостаза кожи, воспалительном процессе и заживлении ран. При псориазе эта группа ферментов участвует в структурных перестройках эпидермиса и микрокапилляров дермы, модифицируя как контакты между отдельными клетками, так и состав межклеточного матрикса. Регулируя проницаемость микрокапилляров дермы, матриксные металлопротеиназы также облегчают проникновение клеток иммунной системы в пораженный болезнью эпидермис.

Целью данной работы было оценить возможные последствия РНК-интерференции *ММП9* в эпидермальных кератиноцитах человека для патогенеза псориаза.

Для проведения экспериментов использовали иммортализованные эпидермальные кератиноциты человека HaCaT, которые экспрессировали shРНК, специфичную к *ММП9* (HaCaT-GB), либо контрольную shРНК того же нуклеотидного состава (HaCaT-KTR). Изменения в экспрессии генов анализировали при помощи ПЦР в режиме реального времени, а изменения в содержании белка — при помощи иммуноблотинга. Для оценки изменений каталитической активности матриксных металлопротеиназ использовали метод зимографии. Для оценки скорости пролиферации HaCaT-GB и HaCaT-KTR сопоставляли кривые их роста. Изменения проницаемости эпидермиса анализировали методом контролируемой инвазии.

Сравнение экспрессии генов показало, что РНК-интерференция приводит к снижению экспрессии целевого гена (*ММП9*) и содержания целевого белка (ММП9), в 4 и 3,4 раза, соответственно. При этом величина ферментативной активности также снижается в 3,3 раза. Экспрессия генов секретируемых матриксных металлопротеиназ, *ММП2*, -9 и -12, увеличивается в $3,13 \pm 0,12$; $2,76 \pm 0,20$ и $5,39 \pm 0,67$ раза. Нами были также установлены разнонаправленные изменения в экспрессии генов, которые играют важную роль в дифференцировке и пролиферации эпидермальных кератиноцитов. Так, экспрессия *МКИ67* составила $0,72 \pm 0,01$, *KRT17* — $0,61 \pm 0,03$ и *S100A7* — $0,14 \pm 0,01$. Экспрессия эпидермальных цитокератинов (*KRT1*, -5, -10, -14 и -16) снизилась в 2–3 раза, а экспрессия *IVL*, *LOR* и *FLG* — в $0,98 \pm 0,17$, $0,10 \pm 0,01$ и $0,46 \pm 0,01$, соответственно.

В данной работе было показано, что снижение уровня экспрессии гена *ММП9* и подавление каталитической активности кодируемого им белка могут иметь терапевтическое значение при псориазе за счет изменения проницаемости межклеточного матрикса для иммунных клеток, а также частичной нормализации экспрессии важных для патогенеза этой болезни генов: *KRT16*, -17 и *S100A7*.

Н. В. Никитченко¹, А. А. Яцкив¹, Е. С. Синявская¹, А. Г. Белькевич², И. А. Козыро²,
Н. Ю. Достанко², В. Е. Ягур², Р. И. Гончарова¹

ПОЛИМОРФНЫЕ ЛОКУСЫ ГЕНОВ *STAT4*, *PTPN2*, *PTPN22* КАК МАРКЕРЫ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКЕ И ЛЮПУС НЕФРИТУ

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: N.Nikitchenko@igc.by

²Белорусский государственный медицинский университет
Республика Беларусь, 220016, г. Минск, пр. Дзержинского, 83

Люпус нефрит (ЛН) — это наиболее тяжелое проявление системной красной волчанки (СКВ), которое часто приводит к хронической почечной недостаточности.

Цель работы: оценить полиморфные варианты генов *STAT4*, *PTPN2*, *PTPN22* в качестве потенциальных ДНК-маркеров риска развития СКВ и ЛН в белорусской популяции.

Материалы и методы. В исследование были включены следующие группы: дети с диагнозом СКВ ($n = 37$, из них 26 с диагнозом ЛН), взрослые с диагнозом СКВ ($n = 64$, из них 49 с диагнозом ЛН), в контрольную группу включены дети ($n = 410$) и взрослые ($n = 345$) без аутоиммунных и хронических воспалительных заболеваний. Генотипирование осуществляли методами ПЦР-ПДРФ и ПЦР-РВ. Статистический анализ данных проводили с использованием онлайн-сервиса SNPStats. Об ассоциации с заболеванием судили по величине показателя отношения шансов (OR) и 95% доверительному интервалу (95% CI).

Результаты. Анализ всех пациентов с СКВ выявил ассоциацию полиморфного локуса rs7574865 в гене *STAT4* с заболеванием (T: OR 1,97 [1,39–2,81], $p = 0,0002$, TT + GT vs. GG: OR 2,05 [1,28–3,26], $p = 0,0025$, TT vs. GT + GG OR 3,54 [1,70–7,41] $p = 0,0017$). Она сохранялась и при анализе детской и взрослой групп пациентов с СКВ по отдельности, несмотря на уменьшение выборки (T: OR 2,17 [1,30–3,6], $p = 0,003$ для детей, T: OR 1,87 [1,2–2,92], $p = 0,006$ для взрослых). Кроме того, аллель T и генотипы, содержащие аллель T, полиморфного локуса rs7574865 гена *STAT4*, были связаны с повышенным риском развития ЛН у детей (T: OR 2,15 [1,21–3,81], $p = 0,01$; TT + GT vs. GG: OR 2,47 [1,08–5,63], $p = 0,03$; TT vs. GT + GG: OR 3,69 [1,21–11,25], $p = 0,03$) и у взрослых (T: OR 1,80 [1,10–2,95], $p = 0,02$, TT vs. GT + GG: OR 5,21 [1,86–14,57], $p = 0,0034$), а также при объединении выборок пациентов (T: OR 1,93 [1,34–2,80], $p = 0,0006$, TT + GT vs. GG: OR 1,84 [1,13–3,02], $p = 0,015$, TT vs. GT + GG: OR 4,19 [1,99–8,80], $p = 0,0005$).

Анализ распределения частот аллелей и генотипов по полиморфным локусам гена *PTPN2* выявил, что rs2542151 ассоциирован с риском развития СКВ (G: OR 1,60 [1,08–2,37], $p = 0,023$; GT vs. TT + GG: OR 1,66 [1,05–2,63], $p = 0,033$; GT + GG vs. TT: OR 1,72 [1,10–2,70], $p = 0,02$) и ЛН (G: OR 1,84 [1,19–2,83], $p = 0,0075$; GT + GG vs. TT: OR 2,00 [1,21–3,32], $p = 0,0081$; GT vs. TT + GG: OR 1,86 [1,11–3,11], $p = 0,02$) в объединенной группе пациентов. Слабая ассоциация гетерозиготного генотипа GT с СКВ (GT vs. GG + TT: OR 1,81 [1,01–3,22], $p = 0,048$) и ЛН (GT vs. GG + TT: OR 1,92 [1,01–3,64], $p = 0,051$) также наблюдалась в группе взрослых пациентов.

Полиморфные локусы rs7234029 в гене *PTPN2* и rs2476601 гена *PTPN22* не были ассоциированы с СКВ или ЛН вне зависимости от возраста пациентов.

Выводы. Анализ объединенной группы пациентов детского и взрослого возраста позволил установить, что полиморфные варианты локусов rs7574865 гена *STAT4* и rs2542151 гена *PTPN2* являются маркерами риска развития СКВ и ЛН в белорусской популяции.

Н. Г. Седляр¹, И. Б. Моссэ¹, Е. П. Янчук¹, Т. В. Докукина²

РОЛЬ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ СЕРОТОНИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В ФОРМИРОВАНИИ ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТАТУСА ЧЕЛОВЕКА

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: n.osennij@gmail.com, i.mosse@igc.by

²РГПЦ психического здоровья Министерства здравоохранения Республики Беларусь
Республика Беларусь, 220053, г. Минск, Долгиновский тракт, 152

В последние десятилетия регистрируется неуклонное увеличение доли психических нарушений в структуре общественного здоровья. Гены нейромедиаторных систем мозга играют значительную роль в формировании психологических свойств человека, поэтому раннее выявление генов-кандидатов, детерминирующих психоэмоциональные особенности личности, является прогностически важным и значимым. Стратегия поиска таких генов основывается на исследовании полиморфных вариантов генов разных нейромедиаторных систем, включая серотонинергическую.

Серотонинергическая система имеет отношение к различным видам социального поведения (пищевого, полового, агрессивного) и эмоциям. Дефицит серотонинергической медиации является важным механизмом суицидального поведения, может вызвать развитие эпилепсии, депрессивности, тревожности и агрессивности.

Нами проведено исследование ассоциации 7 полиморфных вариантов генов серотонинергической системы, детерминирующих психоэмоциональный статус человека: 5-HTTLPR и VNTR-17 гена переносчика серотонина 5-HTT, C-1019G (rs6295) гена рецептора 5-гидрокситриптамина 1A 5-HTT1A, A1438G (rs7997012) и T102C (rs6313) гена рецептора 5-гидрокситриптамина 2A 5-HTT2A. В качестве групп сравнения были исследованы пациенты РНПЦ психического здоровья Министерства здравоохранения Республики Беларусь (531 человек) и контрольная популяционная группа (516 человек).

Для установления генотипов по целевым локусам применяли метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени с использованием прибора CFX96 Touch и готовых коммерческих TaqMan MGB зондов (Applied Biosystems, США). Испытуемые прошли психологическое тестирование для установления их психоэмоционального статуса (тесты HADS и PSS-10).

В результате сравнения частот указанных полиморфных вариантов генов между группой пациентов и контрольной группой были выявлены статистически значимые различия: аллельный вариант T/T гена 5-HTT2A (rs6313) встречается в генотипах пациентов статистически значимо чаще и увеличивает риск нарушения психоэмоционального статуса в 1,98 раза (p-value <0,001; OR 1,98; 95% CI 1,42–2,77), в то время как наличие аллельного варианта C/C, наоборот, уменьшает этот риск в 1,35 раз (p-value 0,021; OR 1,35; 95% CI 1,04–1,75). Разделение всех испытуемых по результатам психологического тестирования уровня депрессии, тревоги и стресса на группы, набравшие наибольшее и наименьшее количество баллов по тестам HADS и PSS-10, позволило установить, что наличие аллельного варианта T/T увеличивает риск развития депрессивных состояний в 2,23 раза (p-value 0,004; OR 2,23; 95% CI 1,25–3,89), а тревожности в 1,91 раз (p-value 0,006; OR 1,91; 95% CI 1,19–3,05).

Таким образом, аллельный вариант T/T гена 5-HTT2A (rs6313) может использоваться в качестве маркера риска развития депрессивных и тревожных состояний с целью выявления групп риска для своевременной профилактической и/или медико-фармакологической коррекции.

Е. С. Синявская¹, А. А. Яцкив¹, Д. В. Большакова¹, Н. Ю. Достанко², В. Е. Ягур²,
Р. И. Гончарова¹

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К РЕВМАТОИДНОМУ АРТРИТУ У НАСЕЛЕНИЯ БЕЛАРУСИ

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: r.goncharova@igc.by

²Белорусский государственный медицинский университет
Республика Беларусь, 220016, г. Минск, пр. Дзержинского, 83

Ревматоидный артрит (РА) — это хроническое воспалительное заболевание суставов неясной этиологии со сложными патогенетическими механизмами развития, которое характеризуется персистирующей аутоиммунной реакцией и широким спектром внесуставных (системных) проявлений.

Цель исследования: изучить ассоциацию полиморфных локусов генов *STAT4* (rs7574865), *IL6* (rs1800795), *IL6R* (rs2228145 и rs4845618), *RUNX1* (rs9979383), *RUNX3* (rs11249215), *PTPN2* (rs2542151), *PTPN22* (rs2476601), *AGER* (rs1035798), *SLC7A11* (rs13128867), *TRAF1/C5* (rs3761847) с наличием РА и выявить потенциальные ДНК-маркеры риска развития РА в белорусской популяции.

Материалы и методы. Сотрудниками 2-й кафедры внутренних болезней БГМУ были сформированы следующие группы для молекулярно-генетического анализа: пациенты с подтвержденным диагнозом РА (n = 305) и контрольная группа (n = 345) лиц без аутоиммунных и хронических воспалительных заболеваний. Генотипирование проводилось с использованием методов ПЦР-РВ и ПЦР-ПДРФ. Ассоциацию с риском развития заболевания оценивали посредством расчета показателя отношения шансов (OR) и 95%-го доверительного интервала с коррекцией по полу и возрасту с использованием онлайн версии статистической программы SNPStats.

Результаты. Анализ группы пациентов с РА выявил ассоциацию полиморфного локуса *STAT4* rs7574865 с заболеванием (Т: OR 1,63 [1,12–2,37], p = 0,009; GT + TT vs. GG OR 1,85 [1,17–2,92], p = 0,008; GT vs. GG + TT OR 1,65 [1,04–2,64], p = 0,033).

По результатам исследования распределения частот аллелей и генотипов по полиморфному локусу гена *IL6* выявлено, что аллель С для rs1800795 ассоциирован с РА (С: OR 1,44 [1,04–1,99], p = 0,026).

Установлено, что аллель Т и генотипы, содержащие хотя бы один аллель Т полиморфного локуса rs2476601 гена *PTPN22*, ассоциированы с повышенным риском развития РА (Т: OR 2,45 [1,59–3,79], p < 0,0001; СТ + ТТ vs. СС OR 2,48 [1,50–4,11], p = 0,0003).

Полиморфный локус rs11249215 гена *RUNX3* не связан с риском возникновения РА. Однако важно отметить, что генотипы, содержащие хотя бы один аллель G в этом локусе, обладали протективным эффектом (GA: OR 0,61 [0,38–0,98], p = 0,041; GA + GG vs. AA OR 0,55 [0,33–0,92], p = 0,022).

Полиморфные локусы rs2228145 и rs4845618 в гене *IL6R*, rs9979383 гена *RUNX1*, rs2542151 гена *PTPN2*, rs1035798 гена *AGER*, rs13128867 гена *SLC7A11* и rs3761847 гена *TRAF1/C5* не были ассоциированы с РА в нашем исследовании.

Выводы. Выявлено, что полиморфные локусы rs7574865 гена *STAT4*, rs2476601 гена *PTPN22* и rs1800795 гена *IL6* ассоциированы с риском развития РА в белорусской популяции.

С. С. Слюсарев

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ИНТРОН-ЭКЗОННОЙ СТРУКТУРЫ НЕКОТОРЫХ ГЕНОВ ЧЕЛОВЕКА

*Академия биологии и биотехнологии, Южный Федеральный Университет
Российская Федерация, 344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки 194/1*

Интрон–экзонная структура многих эукариотических генов поднимает вопрос о том, выполняет ли эта уникальная организация какую-либо функцию или это просто результат распространения нефункциональных интронов в эукариотических геномах.

Существует значительная вариация в количестве интронов в генах человека. Среднее число интронов на ген человека составляет 8–9. Доля генов с небольшим количеством интронов (0, 1 и 2) относительно низка (2%, 4% и 6% соответственно). Гены с 3–6 интронами наиболее распространены и составляют более 30% генов человека. Гены с более чем 30 интронами составляют менее 5% генома. Мы изучили интрон–экзонную структуру некоторых генов человека, экспрессированных в одной ткани (*FGA*, *FGB*, *FGG*, *F2*, *PRM2*, *SMCP*) и генов «домашнего хозяйства», экспрессированных в более чем 27 тканях (*PSMC5*, *GAPDH*, *LENG8*, *EEF2*, *ACTB*, *EMC7*), согласно геномному браузеру NCBI.

Сравнительный анализ показал, что гены из первой группы (*FGA*, *FGB*, *FGG*, *F2*, *PRM2*, *SMCP*) имеют от 1 до 13 интронов в их структуре и от 1 до 12 вариантов сплайсинга. Для двух генов (*FGA*, *FGG*) из первой группы в интронной структуре преобладали интроны фазы 0, для двух других генов (*FGB*, *F2*) из первой группы в интрон–экзонной структуре преобладали интроны фазы 1.

Во второй группе (*HTT*, *FMRI*, *NFI*) гены имеют от 4 до 15 интронов, а также до 23 вариантов сплайсинга. Для пяти генов (*PSMC5*, *GAPDH*, *LENG8*, *EEF2*, *EMC7*) из второй группы в интронной структуре количество интронов фазы 0 преобладало, для другого гена (*ACTB*) из второй группы в интрон–экзонной структуре преобладали интроны фазы 1.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания в сфере научной деятельности № 0852-2020-0028.

А. С. Сталыбко¹, А. А. Гусина¹, С. Н. Пашук¹, Т. О. Кочеткова², И. О. Саделов²,
Е. С. Шубина², Д. Ю. Трофимов²

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ С ВРОЖДЕННЫМ СМЕЩЕНИЕМ ХРУСТАЛИКА В БЕЛАРУСИ

¹Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя»

Республика Беларусь, 200072, г. Минск, ул. Орловская, 66

e-mail: nastyastalybko@gmail.com

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова»

Россия, 117198, г. Москва, ул. Академика Опарина, 4

Введение. Термин «врожденное смещение хрусталика» описывает случаи дислокации хрусталика, не связанные с травмой. Врожденное смещение хрусталика — частый признак наследственных заболеваний соединительной ткани. Распространенность генетически обусловленной дислокации хрусталика составляет 7–10 случаев на 100 000 человек. Мутации в гене *FBN1* являются причиной врожденной эктопии хрусталика в 25–85% случаев. Другими частыми причинами врожденного смещения хрусталика являются мутации в генах *ADAMTSL4* и *CBS*.

Целью исследования являлось изучение спектра мутаций в генах, ассоциированных с врожденным смещением хрусталика у пациентов в Республике Беларусь.

Материалы и методы. В исследуемую группу были включены 83 пациента: 36 пробандов из 35 неродственных семей и 47 родственников здоровых и с заболеваниями. Всем пациентам определяли концентрацию общего гомоцистеина методом иммуноферментного анализа. Пациентам было выполнено высокопроизводительное секвенирование с использованием панели для таргетного секвенирования генов, ассоциированных с развитием наследственных заболеваний соединительной ткани, разработанной сотрудниками ФГБУ «НМИЦ АГП им. В. И. Кулакова» и панели TruSight Inherited Disease (РНПЦ «Мать и дитя»). Наличие всех вариантов было подтверждено у пациентов и членов их семей секвенированием по Сэнгеру.

Результаты. У 30 из 36 обследованных пробандов (83,33%) были выявлены мутации в гене *FBN1*. При этом 16 из 29 обнаруженных вариантов являются новыми, не описанными ранее в доступных нам источниках. Вариант сплайсинга в 46 интроне (rs193922219) был выявлен в двух неродственных семьях. В двух семьях пациентов с изолированным смещением хрусталика и аутосомно-рецессивным типом наследования этого признака были обнаружены 2 мутации в гене *ADAMTSL4*. В нашем исследовании у 3 из 36 обследованных пробандов (8,33%) были выявлены мутации в гене *ADAMTSL4*. Для оценки распространенности носительства наиболее частой мутации в 6 экзоне гена *ADAMTSL4* — с.767_786del20 в Беларуси был разработан метод детекции мутации с помощью фрагментного анализа. В группе из 1 000 новорожденных 4 (0,4% (95% CI 0,009–0,791)) оказались носителями мутации p.Gln256Profs38 в гетерозиготном состоянии. У трех обследованных пациентов были обнаружены 3 мутации в гене *CBS* в гомозиготном состоянии. Таким образом, мутации в гене *CBS* являлись причиной подвывиха хрусталика у 8,33% пробандов.

Заключение. По результатам исследования наибольшая доля мутаций (83,33%) у пациентов с дислокацией хрусталика была выявлена в гене *FBN1*. При этом 16 из 29 обнаруженных вариантов являлись новыми. На втором месте по количеству мутаций (8,33%) находились гены *ADAMTSL4* и *CBS*. Частота гетерозиготного носительства делеции с.767_786del20 в Беларуси составила 1:250.

С. А. Тихомиров^{1,3}, Г. Кокаева¹, О. И. Рудько¹, Е. А. Катунина^{2,3}, Н. Н. Шипилова^{2,3},
Н. В. Титова^{2,3}

РОЛЬ КЛЮЧЕВЫХ ГЕНОВ МЕТАБОЛИЗМА ДОФАМИНА В ВОЗНИКНОВЕНИИ ИМПУЛЬСИВНО-КОМПУЛЬСИВНЫХ РАССТРОЙСТВ НА ФОНЕ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

¹Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Биологический факультет
Россия, 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12
e-mail: zaremak@inbox.ru

²ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова
Россия, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1

³ФГБУ Федеральный центр мозга и нейротехнологий ФМБА России
Россия, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1, стр.10
e-mail: nattitova@yandex.ru

Болезнь Паркинсона (БП) — второе по распространенности после болезни Альцгеймера нейродегенеративное заболевание, характеризующееся гибелью дофаминергических нейронов, преимущественно в черной субстанции головного мозга.

БП характеризуется прежде всего, такими моторными проявлениями, как брадикинезия, тремор и ригидность, но выделяют также немоторные симптомы, значительно осложняющие течение болезни. К ним относят группу импульсивно-компульсивных и ассоциированных с ними расстройств (ИКР), самыми распространенными из которых являются игромания, шопоголизм, переедание и гиперсексуальность, спровоцированные дофаминергической терапией.

Цель данного исследования — оценить роль полиморфизма генов *DBH*, *MAOB*, *DRD3*, *SLC6A3* (*DAT1*), *ANKK1*, *BDNF* и *DDC* в развитии ИКР у пациентов с БП на фоне дофаминергической терапии.

В исследование включались больные старше 40 лет — 45 пациентов, получающие дофаминергическую терапию. Группу контроля составили 36 пациентов с БП без поведенческих расстройств. Образцы крови были предоставлены РНИМУ им. Н. И. Пирогова г. Москвы. Группа популяционного контроля — 180 жителей Москвы и Московской области. Выделение ДНК было проведено из образцов цельной крови с использованием набора (IG Spin DNA Prep 100) и магнитных частиц (ООО «Лаборатория Изоген», Москва). Анализ аллельного состояния генов был проведен с использованием методов на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР): ПЦР-ПДРФ, АС-ПЦР, ПЦР-RealTime. Были проанализированы частоты аллелей и генотипов выбранных генов.

Установлено, что замены rs6271, rs1799836, rs5236, rs40184 (у всех замен аллель Т) ассоциированы с развитием БП. Поиск комплексных генотипов выявил 11 комплексов, повышающих риск возникновения БП + ИКР. Среди них *DBH*_rs6271:Т и *DRD1*_rs5326:Т встречались чаще других, а *DDC*_rs1451375:С и *DRD1*_rs5326:Т — только в комплексах, повышающих риск БП + ИКР.

Учитывая, что гибель нейронов черной субстанции начинается задолго до появления первых двигательных симптомов, ранняя диагностика БП с помощью биомаркеров и раннее начало терапии являются крайне актуальными. Результаты данной работы могут способствовать раннему обнаружению заболевания у пациентов-носителей генотипов СТ или ТТ замены rs6271 гена *DBH*, СТ или ТТ замены rs5236 гена *DRD1* и ТТ замены rs40184 гена *DAT1*.

С. Тоннанг Момо, Е. В. Машкина**ИССЛЕДОВАНИЕ АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФИЗМА rs2302382 ГЕНА *GIPR* С ОЖИРЕНИЕМ У ДЕТЕЙ ИЗ РОСТОВА-НА-ДОНУ**

*Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского Южного федерального университета
Россия, 344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1
e-mail : stonnangmomo@gmail.com*

Ожирение — это заболевание, которое затрагивает все слои населения, все народы и даже распространено в странах с низким уровнем дохода. Желудочный ингибирующий полипептид (GIP) относится к классу кишечных секретин, синтезируемых К-клетками двенадцатиперстной кишки и тонкой кишки. Основной физиологический эффект GIP реализуется через рецептор GIP, связанный с G-белком. Его ген расположен в положении 19q13.2-q13.3, а его мРНК присутствует в сердце, островках поджелудочной железы, кишечнике, жировой клетчатке, гипофизе и коре надпочечников. Активация этого рецептора желудочным ингибиторным полипептидом стимулирует выработку инсулина β -клетками островков поджелудочной железы и стимулирует гидролиз триглицеридов и липогенез за счет увеличения поглощения свободных жирных кислот адипоцитами.

Мутации могут привести к потере функции GIPR. В данной работе мы исследовали ассоциацию замены основания *C* на *A* в первом интроне гена *GIPR* (rs2302382) с ожирением у детей Ростовской области. Для гомозигот *CC* отмечено снижение экспрессии гена *GIPR*.

Наше исследование проводилось с использованием ДНК, выделенной из крови 198 детей в возрасте от 2 до 12 лет. Образцы были разделены на 2 группы: контрольная группа ($n = 85$) с нормальным индексом массы тела и испытуемая группа ($n = 113$) с избыточным весом и ожирением. Эти различные фенотипические признаки были присвоены в соответствии с рекомендациями ВОЗ 2017 года по индексу массы тела. Генетическое определение полиморфизма проводили методом T-ARMS-PCR с реагентами фирмы СИНТОЛ (Россия). Продукты амплификации разделяли методом электрофореза в 2,5% агарозном геле при 115 вольт в течение 30 минут.

Распределение частот генотипов по исследуемому полиморфизму в контрольной группе и в группе с избыточным весом и ожирением соответствует равновесию Харди–Вайнберга ($\chi^2 = 1,33$ и $\chi^2 = 0,166$ соответственно). Мы наблюдали преобладание гомозигот по дикой аллели *C* в группе детей с избыточным весом (59,3%), доля гомозигот по мутантной аллели *A* составила 4,4%, а гетерозигот — 36,3%. В контрольной группе было выявлено сходное распределение частот генотипов, а именно: преобладание дикой гомозиготы (55,3%), частота гетерозигот составила 41,2%, наконец, гомозиготы по мутантной аллели составили 3,5%. Разница в частотах генотипов между контрольной и испытуемой группами статистически не значима ($p = 0,76$). На основании этих результатов можно сказать, что rs2302382 гена *GIPR* не ассоциирован с формированием избыточного веса у детей. Эти результаты аналогичны результатам, полученным Sauber с коллегами в 2010 году при молекулярно-генетическом анализе ДНК детей и подростков с ожирением из Берлина (Германия).

**М. М. Церахава¹, Я. Магіера², Дж. Ціў³, Ж.-П. Мажараль³, І. Вацулікава⁴,
М. Брышэўска², Д. Г. Шчарбін¹**

ПЕРСПЕКТЫЎНАСЦЬ ВЫКАРЫСТАННЯ АМФІФІЛЬНЫХ ФОСФАРЗМЯШЧАЛЬНЫХ ДЭНДРОНАЎ У ГЕНЕТЫЧНАЙ ТЭРАПІІ ЛЕЙКОЗНЫХ ЗАХВОРАВАННЯЎ

¹Інстытут біяфізікі і клетачнай інжынерыі НАН Беларусі, Мінск, Беларусь

e-mail: maryterekhova@tut.by

²Лодзінскі Універсітэт, Лодзь, Польшча

³Нацыянальны цэнтр навуковых даследаванняў, Тулуза, Францыя

⁴Універсітэт імя Я. А. Каменскага, Браціслава, Славакія

Генетычная тэрапія з'яўляецца адным з найбольш шматбацьцальных накірункаў сучаснай медыцыны, аднак усё яшчэ востра стаіць пытанне дастаўкі тэрапеўтычных нуклеінавых кіслот (НК) у мэставыя клеткі. Для павышэння эфектыўнасці дастаўкі НК выкарыстоўваюцца спецыяльныя вектары, сярод якіх можна вылучыць сінтэтычныя разгалінаваныя палімерныя наначасткі — амфіфільныя дэндроны. Па сваёй хімічнай структуры яны нагадваюць галіны дэндрымераў, якія ў водным растворе могуць аб'ядноўвацца ў міцэлападобныя структуры дзякуючы наяўнасці гідрафобных факальных груп. Спалучэнне такіх уласцівасцяў, як высокая разгалінаванасць, з якой вынікае наяўнасць вялікай колькасці функцыянальных груп на паверхні, і здольнасць звязваць тэрапеўтычныя НК ў гідрафобнай паражніне міцэлы робіць амфіфільныя дэндроны перспектыўнымі сродкамі таргетнай генетычнай тэрапіі. Дадзеная праца накіравана на даследаванне эфектыўнасці дастаўкі супрацьпуклінных міРНК шэрагу амфіфільных дэндронаў на клетках праміелацытарнай лейкеміі.

У выніку даследавання цытатаксічнасці амфіфільных дэндронаў на працягу 72 гадзін на лініі клетак праміелацытарнай лейкеміі чалавека было выяўлена, што амфіфільныя дэндроны з піперыдынавымі тэрмінальнымі групамі значна больш таксічныя за дэндроны з піралідынавымі тэрмінальнымі групамі, у той час як уплыў структуры факальных груп на цытатаксічнасць нязначны. Усе з прадстаўленых амфіфільных дэндронаў паказалі высокую здольнасць звязваць малыя РНК ў зарадавых суадносінах дэндрон/міРНК 2,5:1 і вышэй. Даследаванне здольнасці амфіфільных дэндронаў інтэрналізаваць міРНК siBcL-xL у клеткі праміелацытарнай лейкеміі метадам праточнай цытаметрыі паказала, што дэндроны другой генерацыі здольныя дастаўляць генетычны матэрыял у звыш за 90% клетак, дэндроны першай генерацыі з піралідынавымі тэрмінальнымі групамі дастаўлялі міРНК у прыблізна 30% клетак, тады як здольнасць дэндронаў першай генерацыі з піперыдынавымі тэрмінальнымі групамі была нязначнай.

У выніку праведзеных даследаванняў было паказана, што сярод даследаваных наначастак найбольшую эфектыўнасць дастаўкі тэрапеўтычных міРНК маюць амфіфільныя дэндроны другой генерацыі, нягледзячы на іх большую таксічнасць у параўнанні з дэндронамі першай генерацыі.

Дадзеная праца была падтрымана Беларускім рэспубліканскім фондам фундаментальных даследаванняў і Дзяржакамітэтам РБ па навуцы і тэхналогіях, гранты Б19АРМГ-002, Б20СЛКГ-002; Польскім агенствам NAWA, грант EUROPARTNER, No. PPI/APM/2018/1/00007/U/001.

Е. П. Цыганкова¹, Е. С. Иванова², А. А. Александрова²

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ У БОЛЬНЫХ COVID-19

¹Ростовский государственный медицинский университет
Россия, 344022, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29
e-mail: katyatsygan@mail.ru

²Южный федеральный университет
Россия, 344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки 194/1

Вирус SARS-CoV2 инфицирует иммунные и эндотелиальные клетки, что приводит к повреждению эндотелия и нарушению регуляции иммунной системы. Активированные лейкоциты усиливают прокоагулянтное состояние за счет высвобождения внутрисосудистого тканевого фактора, активации тромбоцитов и ингибирования антикоагулянтных механизмов. Дополнительный путь, имеющий особое значение при активации системы свертывания крови — рост концентрации провоспалительных цитокинов. Модель имунотромбоза иллюстрирует сложное взаимодействие между врожденной иммунной системой и коагуляцией при COVID-19 (Zaid, Y., e.a. 2020; Явелов И., Драпкина О., 2020). COVID-19 связан со значительным тромботическим риском, основные механизмы которого включают локальную экспрессию тканевого фактора на мононуклеарных клетках, его накопление и высвобождение после эндотелиального повреждения, которое впоследствии инициирует коагуляции и образование тромбина, а также ингибирование фибринолиза в ответ на цитокиновый шторм (TNF α , IL-1, IL-6) (Nishiura H, e.a., 2020). IL-1 и TNF- α также являются основными цитокинами, ответственными за нарушение эндогенных антикоагулянтных путей (Хавинсон В., Кузник Б. 2020; Carfora V., 2020).

В рамках данного исследования проведено обследование 197 пациентов. Рекрутинг пациентов осуществлялся в период с 12.03.2021 г. по 08.07.2022 г. в медицинском центре «Наука» (Ростов-на-Дону, Россия). По степени тяжести перенесенного заболевания COVID-19 все пациенты были разделены на 4 группы: 1 гр. — бессимптомное протекание инфекции, 2 гр. — легкая форма болезни, 3 гр. — среднетяжелая степень; 4 гр. — тяжелая форма инфекции. Исследовали полиморфные локусы –308 G > A гена *TNF α* , 174 G > C гена *IL-6* и 31C-T гена *IL1 β* . Генотипирование цитокинов проводили с помощью ПЦР с использованием наборов SNP-Express (Литех, Россия).

Выявлено увеличение частоты гетерозигот по полиморфному локусу 31C-T гена *IL1 β* и –308A гена *TNF α* у пациентов с тяжелой формой протекания COVID-19 по сравнению с бессимптомной. Статистически достоверных различий в частоте встречаемости аллеля 174 G > C гена *IL-6* у пациентов с разной тяжестью протекания COVID-19 не обнаружено.

Недостаточность или отсутствие научных данных о генетических характеристиках больных создает серьезную угрозу личной и популяционной генетической безопасности населения.

Н. Н. Чакова¹, Т. В. Долматович¹, С. М. Комиссарова², А. А. Гусина³,
В. Ч. Барсукевич², С. С. Ниязова¹

МУТАЦИИ В ГЕНЕ *RYR2* У ПАЦИЕНТОВ С ЖЕЛУДОЧКОВЫМИ ТАХИАРИТМИЯМИ И ТРАНЗИТОРНЫМ УДЛИНЕНИЕМ ИНТЕРВАЛА QT

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси,
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: n.chakova@igc.by

²Республиканский научно-практический центр «Кардиология»
Республика Беларусь, 220036, г. Минск, ул. Розы Люксембург, 110Б

³Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя», Минск, Беларусь
Республика Беларусь, 220053, г. Минск, ул. Орловская, 66

Введение. Большинство мутаций в гене *RYR2*, кодирующем рианодиновый рецептор кальциевого канала сердечной мышцы, вызывают развитие катехоламинергической полиморфной желудочковой тахикардии (КПЖТ), одной из злокачественных сердечных каналопатий с высоким риском внезапной сердечной смерти (ВСС) в молодом возрасте. Патогенные мутации в гене *RYR2* идентифицируются у 50–60% пациентов с КПЖТ, а также встречаются у пациентов с синдромом удлинённого интервала QT (LQTS), аритмогенной дисплазией правого желудочка и идиопатической фибрилляцией желудочков. Примерно у 30% пациентов с КПЖТ при наличии преходящего умеренного удлинения интервала QT ошибочно диагностируют LQTS.

Цель. Изучить спектр и распространенность мутаций в гене *RYR2* у пациентов с желудочковыми тахикардиями (ЖТА) и удлинённым интервалом QT.

Материалы и методы. В исследование включены 20 пациентов с впервые возникшей ЖТА, по поводу которой был имплантирован ИКД, с предварительным диагнозом синдрома удлинённого QT (LQTS). Клиническое обследование включало ЭКГ покоя, 24-ч СМ ЭКГ, ЭхоЭКГ, МРТ с контрастным усилением. Диагностические критерии LQTS оценивали по модифицированной шкале Schwartz и соавт. (2011). Поиск мутаций в генах, ассоциированных с наследственными каналопатиями, проводили методом NGS.

Результаты. В результате секвенирования у 3 (15,0%) из 20 пациентов с предварительным диагнозом LQTS выявлены мутации с.463G > A (p.Gly155Arg), с.11814C > A (p.Ser3938Arg, rs794728704) с.14876G > A (p.Arg4959Gln, rs794728811) в гене *RYR2*, локализованные в 7, 88 и 105 экзонах соответственно. У пациентки с новым вариантом в 7 экзоне в 21 год имплантирован электрокардиостимулятор по поводу выраженной брадикардии с транзиторным удлинением QTc. У пациентов с двумя другими мутациями, кроме транзиторного удлинения интервала QTc, наблюдались синкопальные состояния, эпизоды полиморфной ЖТ или ВСС с успешной реанимацией, потребовавшие имплантации кардиовертера-дефибриллятора в возрасте 32 и 14 лет. У сына пациентки с мутацией в 88 экзоне, обладающего таким же вариантом в гене *RYR2* и клинической картиной заболевания, произошла ВСС в возрасте 8 лет. С учетом данных генотипирования пациентов первоначальный диагноз LQTS был изменен на КПЖТ.

Заключение. Патогенные мутации в гене *RYR2* обнаружены у 15,0% пациентов с предварительным диагнозом LQTS. Диагноз КПЖТ может быть недооценен у таких пациентов. Необходимы исследования для выяснения причин удлинения интервала QT у некоторых пациентов с мутациями в гене *RYR2*. Генотипирование наряду с клинико-инструментальным подходом позволяет уточнить диагноз, назначить генотип-специфическую терапию и улучшить стратификацию риска ВСС.

Е. К. Шематорова, Д. Г. Шпаковский, Г. В. Шпаковский

ЧЕЛОВЕКСПЕЦИФИЧНЫЕ ПРОДУКТЫ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ *POLR2J2–POLR2J4* И *PCID1* *HOMO SAPIENS* КАК НОВЫЕ БИОМАРКЕРЫ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»
Россия, 123182, г. Москва, площадь Академика Курчатова, д. 1
e-mail: yushpak57@mail.ru

Ранее мы идентифицировали на хромосоме 7 человека четыре гена, кодирующих ряд новых изоформ незаменимой субъединицы РНК-полимеразы II RPB11 (*POLR2J*): *POLR2J1–POLR2J4*. Выяснилось, что основные этапы амплификации и диверсификация структуры и функций этих генов происходили в важнейший период антропогенеза: во время отделения рода *Homo* от других видов *Homininae*. С самых молодых генов *POLR2J2–POLR2J3* человека считается ряд мРНК, кодирующих человекспецифичные изоформы субъединицы hRPB11, участвующие в образовании новых комплексов генной экспрессии *Homo sapiens* [Int J Mol Sci., 2019 Dec24, 21(1):135]. При анализе тканеспецифичности экспрессии этих генов на уровне мРНК в сравнении с предковым геном *POLR2J1* мы наблюдали повышенную экспрессию мРНК *hRPB11ba* при нейробластоме мозга, лейомиосаркоме матки, *hRPB11dδ* — при аденоме прямой кишки, а *hRPB11bβ* — при ретинобластоме, аденокарциноме простаты и раке легкого. Повышенная экспрессия при раке прямой кишки и лейкемии характерна для мРНК гена *PCID1*, кодирующего две изоформы взаимодействующей с hRPB11 субъединицы фактора инициации трансляции eIF3m, hEIF3ma и впервые обнаруженной нами hEIF3mβ.

Совсем недавно выяснилась поразительная универсальность гена *POLR2J4* в качестве удобного биомаркера многих видов рака. Установлено, что длинная, полноразмерная *lnc-POLR2J4* РНК *Homo sapiens* может рассматриваться в качестве достоверного, высокоспецифичного биомаркера и прогностического индикатора у пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой (HCC): только шесть или даже четыре [PeerJ., 2019, 7, e7413] длинных некодирующих РНК необходимы для правильного прогнозирования безрецидивной выживаемости пациентов с ассоциированным с HCC циррозом печени, что обеспечивает простые, но надежные тесты для улучшения прогноза развития HCC у онкобольных. Другими авторами показано, что экспрессия кольцевой РНК гена *POLR2J4* (*hsa_circ_0079993*) значительно повышена в тканях колоректального рака (CRC) по сравнению с соседними нормальными тканями [Med. Sci. Monit., 2019 25: 6872-6883]. При анализе общей выживаемости пациенты с CRC с высокой экспрессией гена *POLR2J4* имели худший прогноз, чем пациенты с низкой его экспрессией. Кроме того, ген *POLR2J4* может быть достоверным биомаркером для диагностики некоторых видов рака груди, включая один из самых агрессивных трижды негативный рак молочной железы (TNBC), острого миелоидного лейкоза [AML] и такого распространенного и опасного вида рака мозга, как глиобластома (GBM). Биологический механизм такой «онкогенности» *POLR2J4* становится понятен, если учесть, что как истинный (на всем своем протяжении) паралог генов *POLR2J2* и *POLR2J3*, но не *POLR2J1*, ген *POLR2J4* в качестве конкурирующей эндогенной РНК (competitive endogenous RNA, ceRNA [Cell, 2011, 146:353-358]) в первую очередь должен регулировать экспрессию именно двух первых упомянутых выше человекспецифичных генов системы транскрипции, фактически сразу отделяя их функциональную клеточную судьбу от мастер-гена *POLR2J1*, имеющего высококонсервативные ортологи у всех млекопитающих и других организмов. Так что именно человекспецифичные гены *POLR2J2* и *POLR2J3*, скорее всего, непосредственно влияют на процесс онкогенеза.

М. Н. Шепетько¹, Е. П. Михаленко², А. Н. Щаюк², Ю. В. Полюхович², Ю. С. Станкевич²,
А. В. Кильчевский²

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ VEGF И ОЦЕНКА ВЫЖИВАЕМОСТИ У ПАЦИЕНТОВ С НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО

¹УО «Белорусский медицинский университет»

Республика Беларусь, 220016, г. Минск, пр. Дзержинского, 83

²Институт генетики и цитологии НАН Беларуси

Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27

В последние годы рак легкого занимает первые позиции в структуре смертности от онкологических заболеваний во многих экономически развитых регионах мира. В настоящее время большое число фундаментальных исследований сфокусировано на поиске новых биологических показателей прогнозирования течения заболевания. Одним из самых актуальных направлений является понимание молекулярно-генетических механизмов, приводящих к прогрессированию опухоли.

Целью нашей работы было изучение влияния полиморфных вариантов rs2010963 (с.–634G > C), rs699947 (–2578 A > C/A > T) и rs3025039 (+936C > T) гена *VEGF* на выживаемость пациентов с немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ).

В исследование включены 365 пациентов с НМРЛ I–III стадий заболевания, получивших лечение в УЗ «Минский городской клинический онкологический центр» с 2012 по 2018 гг., из них 285 (78,1%) мужчин и 80 (21,9%) женщин. Средний возраст пациентов составил $63,0 \pm 8,9$ года (от 39 до 92 лет).

Молекулярный анализ полиморфизмов гена *VEGF* проводился с использованием метода ПЦР-ПДРФ.

Медиана времени наблюдения за пациентами равнялась 62 мес. (от 41 до 81 мес.), нижний, верхний квартили — 56–67 мес. соответственно. За время наблюдения от основного заболевания умерли 148 (40,5%) пациентов, от других причин — 59 (16,2%). Общая 5-летняя выживаемость составила 49,9% (SE 2,8%), медиана общей выживаемости (ОВ) 59,3 мес., скорректированная или канцерспецифическая 5-летняя выживаемость (СВ) — 59,4% (SE 2,9%), медиана СВ — 94,9 мес.

При анализе выживаемости пациентов с НМРЛ, в зависимости от полиморфных вариантов *VEGF* показана ассоциация СВ с rs2010963 и rs699947. 1-годовая СВ у носителей генотипа 634G/C rs2010963 составила 81,9% (SE 3,9%), у носителей генотипа 634G/G — 92,8% (SE 2,5%), уровень значимости $p = 0,016$; двухлетняя СВ: 634G/C — 70,4% (SE 4,6%) и 634G/G — 84,3% (SE 3,5%), $p = 0,015$ и трехлетняя СВ: 634G/C — 63,0% (SE 4,9%), 634G/G — 76,7% (SE 4,1%), $p = 0,029$.

1-годовая СВ у носителей генотипа 2578A/A rs699947 равнялась 95,7% (SE 3,0%), а у носителей генотипа 2578C/C составила только 79,2% (SE 5,9%), при уровне статистической значимости $p = 0,015$. Такая же ситуация наблюдалась в течение 2-го года наблюдения: двухлетняя СВ у носителей генотипа 2578A/A — 89,0% (SE 4,6%), генотипа 2578C/C — 72,7% (SE 6,5%) при $p = 0,042$.

Таким образом, можно предположить, что в течение первых 3-х лет НМРЛ, наиболее чувствителен к проводимому противоопухолевому лечению и зависит от индивидуальных генетических характеристик *VEGF*, кодирующего эндотелиальный фактор роста сосудов — основной компонент системы ангиогенеза. Далее происходит «ускользание» опухоли от ответа на проводимое лечение, и разница в скорректированной выживаемости нивелируется.

С. С. Шепталиня, З. Г. Кокаева, О. И. Рудько, Е. А. Наумова, И. О. Остроухова

РОЛЬ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ БЕЛКИ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКОЙ И ХОЛЕЦИСТОКИНИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМ В ПАТОГЕНЕЗЕ ПАНИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВ ЧЕЛОВЕКА

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Биологический факультет
Россия, 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12
e-mail: sheptalinas@gmail.com

Панические расстройства (ПР) являются распространенным хроническим, многофакторным заболеванием. Данное расстройство характеризуется многократно повторяющимися паническими атаками, которым предшествует приступ тревожности. Распространенность ПР оценивается в 1–3%, при этом женщины подвержены этому заболеванию в два раза чаще, чем мужчины (Eaton et al., 1994).

Панические атаки включают в себя ряд повторяющихся симптомов: тахикардию, ощущение нехватки воздуха и удушья, потливость, головокружение, сдавливание в груди, нарастающий страх смерти и потери сознания, ощущение нереальности происходящего. Считается, что проявление ПР связано как с генетическими, так и социальными и экологическими факторами. В связи с развитием методов полногеномных исследований удалось выявить множество новых генов-кандидатов, но до сих пор остается актуальной задачей их верификация, а также роль в заболевании у различных популяций.

Цель данного исследования: выявление ассоциаций с паническими расстройствами для полиморфных вариантов генов *DBH*, *DRD1*, *DRD2*, *DRD3*, *CCK*, *CCAR*, *CCABR*, *COMT*.

Для исследования были использованы 114 образцов цельной крови больных ПР. Данные образцы были получены в Лаборатории неврологии и клинической нейрофизиологии НИЦ Первого МГМУ им. И. М. Сеченова. Возраст пациентов составил от 22 до 62 лет. Объем контрольной выборки — 180 человек, жителей Москвы и Московской области. Выделение ДНК было проведено из образцов цельной крови с помощью наборов с магнитными частицами Magna™ DNA Prep 200 (ООО «Лаборатория ИзоГен», Москва). Анализ генов проводился при помощи методов, основанных на полимеразной цепной реакции (ПЦР): ПЦР, ПЦР-ПДРФ, ПЦР-RealTime, SNaPshot.

Для выбранных генов были проанализированы частоты генотипов исследованных выборок. В качестве сравнения использовались группа больных с установленным паническим расстройством и группа здоровых (популяционный контроль).

Впервые на российской популяции показано влияние полиморфных вариантов генов *DBH* rs1611115, *DRD1* rs5326, *DRD2* rs6275, *CCKAR* rs1800855 на развитие панических расстройств, что согласуется с литературными данными о влиянии дофаминергической и холецистокининергической систем на развитие панических расстройств. Выявлены комплексные генотипы, которые ассоциированы с ПР, причем наиболее сильное сочетание генотипов *DBH*:T+*DRD1*:T (шансы риска развития ПР увеличиваются в 30,21), а для генотипа *DRD2*:AA (шансы риска возникновения ПР увеличиваются в 14,46).

Полученные данные могут служить основой для новых экспериментальных исследований, а в дальнейшем для создания эффективных тест-систем для разработки индивидуального подхода к каждому случаю ПР.

Т. А. Шерчкова

ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНА *XRCC1* И МУЖСКОЕ БЕСПЛОДИЕ: МЕТААНАЛИЗ

Академия биологии и биотехнологии ЮФУ
Россия, 344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки 194/1
e-mail: Tatyana-72008@yandex.ru

Повреждающее действие химических, физических и биологических факторов на половые клетки играет важную роль в патогенезе мужского бесплодия. Эксцизионная репарация азотистых оснований (англ. base excision repair — BER) — система репарации ДНК, удаляющая из двойной спирали поврежденные азотистые основания. BER позволяет защищать геномную ДНК от повреждений, вызванных радиацией или воздействием АФК. В данной работе изучены полиморфизмы гена *XRCC1* Arg399Gln (1 196 A > G) (rs25487), Arg280His (839G > A) (rs25489), которые потенциально могут коррелировать с риском возникновения мужского бесплодия.

Был проведен поиск в базах данных PubMed и Google Scholar на основе руководства по проведению метаанализов PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses) (Moher et al., 2009). Были использованы следующие комбинации ключевых слов: ("XRCC1" or "X-ray cross-complementing gene") and ("male infertility" or "oligozoospermia" or "oligoasthenoteratozoospermia" or "azoospermia" or "pathospermia" or "spermatogenesis") and ("polymorphism" or "variant" or "polymorphisms" or "variants" or "SNP"). В метаанализ были включены 7 публикаций. Исследования проводились в двух этнических популяциях: азиатской (Gu et al., 2007; Ji et al., 2010; Zheng et al., 2012; Zhang et al., 2016) и европеоидной (Marzband et al., 2015; Ghasemi et al., 2017; Sherchkova et al., 2021). Наконец, 7 исследований с 1 390 «случаями» и 1 171 «контролями» для *XRCC1* Arg399Gln и 2 исследования с 693 «случаями» и 329 «контролями» для *XRCC1* Arg280His были включены в обобщенные данные для метаанализа.

Ранее была обнаружена ассоциация полиморфизма Arg399Gln *XRCC1* с идиопатической азооспермией в китайской популяции (Gu et al., 2007; Zheng et al., 2012), а также с мужским бесплодием в европейской популяции (Marzband et al., 2015; Garcia-Rodriguez et al., 2018). Ji и др. (2010) не обнаружили связи полиморфизмов Arg399Gln и Arg280His *XRCC1* с мужским бесплодием. Ghasemi и др. (2017) не обнаружили связи полиморфизма Arg399Gln *XRCC1* с мужским бесплодием. В нашем предыдущем исследовании было выявлено, что полиморфизм *XRCC1* Arg280His может быть фактором повышенного риска патоспермии, в отличие от полиморфизма Arg399Gln *XRCC1* (Sherchkova et al., 2021).

По результатам текущего метаанализа в рамках рецессивной модели наследования наблюдалась статистически значимая ассоциация полиморфизма Arg399Gln *XRCC1* с риском возникновения мужского бесплодия для совокупных данных (GG vs. GA + AA: OR = 0,64, 95% CI: 0,44–0,94, P = 0,02), но не для данных по азиатской и европеоидным популяциям в отдельности. Следовательно, на основании этих результатов, генотип GG потенциально может быть связан со сниженным риском мужского бесплодия. Однако не было обнаружено статистически значимой связи между полиморфизмом Arg399Gln *XRCC1* и мужским бесплодием в рамках доминантной модели наследования. Для *XRCC1* Arg280His не наблюдалось статистически значимой связи с возникновением мужского бесплодия как в рамках рецессивной, так и в рамках доминантной генетических моделей для всех популяций. Для подтверждения данных результатов необходимы дальнейшие крупные эпидемиологические исследования.

Е. А. Шило, Т. Н. Дубинич-Федорова, О. И. Плотницкая

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЛОКУСЕ ГЕНА АМЕЛОГЕНИНА В АСПЕКТЕ СУДЕБНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ТИПИРОВАНИЯ ДНК

Государственный комитет судебных экспертиз Республики Беларусь
Республика Беларусь, 220030, Минск, ул. Володарского, 2а
e-mail: alena.shyla@gmail.com

Использование маркера определения половой принадлежности амелогенина, включенного во множество коммерческих мультиплексных наборов для типирования микросателлитных (STR) ауто-сомных локусов, локусов X- и Y- хромосомы является обычной практикой для судебного генетического ДНК-анализа. Хотя считается, что амелогенин является надежным маркером для определения пола биологических образцов, существуют данные о выпадениях, невыявлениях одного из гомологов гена амелогенина *AMELX* или *AMELY*, фиксируемых повсеместно во всех уголках земного шара.

Среди причин, лежащих в основе невыявления одного из гомологов гена амелогенина, называют этническую принадлежность биологического образца, степень деградации образца, наличие в образце веществ, ингибирующих ПЦР реакцию, мутации в зоне посадки праймеров, специфичных для амплификации *AMELX/AMELY*. Так, например, невыявление фрагмента *AMELY* при амплификации гена амелогенина при отсутствии дополнительной информации об объекте исследования может привести к ошибочной идентификации пола для мужских образцов ДНК.

Амелогенин — однокопийный ген, кодирует белки зубной эмали и его гомологи расположены на X (*AMELX* (Xp22.1–Xp22.3)) и Y (*AMELY* (Yp11.2)) хромосомах. Гомологи *AMELX* и *AMELY* отличаются по молекулярному размеру в парах нуклеотидов и нуклеотидной последовательности. Наиболее часто используемая пара праймеров для амплификации гена амелогенина фланкирует делецию в 6 пар нуклеотидов (интрон 3 гена Амелогенина), что приводит к амплификации фрагментов *AMELX* и *AMELY*, различающихся по длине.

В нашей экспертной практике установлено и описано 25 случаев, в которых отсутствовала специфическая амплификация одного из гомологов *AMELX* или *AMELY* гена амелогенина (*AMEL*), обнаруженных у мужчин в подавляющем большинстве случаев белорусского происхождения: 21 случай с выпадением *AMELY* и 4 случая с выпадением *AMELX*.

В 8 из 21 случаев с выпадением *AMELY* была обнаружена делеция *AMELY-DYS458*. Размеры делеции *AMELY-DYS458* были уточнены: она составляет 1,91 Mb и включает локусы *AMELY-DYS570-DYS576-DYS458-DYS449-DYS481-DYS627*. Данная делеция может наследоваться сыном от отца и не влияет на фертильность. Делеция *AMELY-DYS570-DYS576-DYS458-DYS449-DYS481-DYS627* также была обнаружена у двух родных биологических братьев.

Кроме того, в 7 случаях нами был установлен синдром XX (синдром де ля Шапеля) у мужчин. Азооспермия и бесплодие ассоциируются с синдромом де ля Шапеля у мужчин. Мужчины с синдромом XX и азооспермией представляют сложность для их идентификации в случаях сексуального насилия. Ранее нами были описаны две группы генетических механизмов, приводящих к развитию синдрома де ля Шапеля.

В 3 из 21 случаев с выпадением *AMELY* невыявление *AMELY* может быть связано с мутацией в зоне посадки праймеров для специфической амплификации *AMELY*. Четыре случая с выпадением *AMELX* также могут быть связаны с мутациями в зоне посадки праймеров для *AMELX*.

N. I. Alayasa Nadeim, E. G. Derevyanchuk, O. Yu. Bordaeva

EXPRESSION OF CIRCULATING MICRORNAS AS DIAGNOSTIC MARKERS OF PREECLAMPSIA

*Southern Federal University
344090, Stachki 194/1, Rostov-on-Don, Russia
e-mail: alayasanadeim@gmail.com*

Pre-eclampsia (PE) is defined as a severe gestational condition that appears after the twentieth weeks of pregnancy, affecting 5–8% worldwide. Circulating microRNAs are short, noncoding RNA molecules. The role of miRNAs was studied in many publications related to PE, however the results have been inconsistent due to variety of diagnostic and prognostic values. Therefore, we conducted a meta-analysis study to quantify the general diagnostic effects of circulating miRNAs in the diagnosis of PE.

We searched chosen data-bases and systematically collected publications for analysis from January 2017 till June 2021. Following the screening of the literature and the extraction of data. After that, we conducted a quality evaluation using the QUADAS-2 score system. A bivariate-random effect meta-analysis model was then used to construct the pooled diagnostic parameters. To identify the causes of heterogeneity, we conduct the threshold effect analysis as well as the subgroup analysis. Fagan's Nomogram was used to validate the clinical utility. Moreover, sensitivity and specificity analysis were used to evaluate each study's reliability, and to investigate the publication-bias we conducted the funnel plot asymmetry test.

Our meta-analysis involved 8 articles (Altındirek, 2021; Dong et al., 2019; Kim et al., 2020; Motawi et al., 2018; Murakami et al., 2018; Timofeeva et al., 2018; Tolba et al., 2020; Whigham et al., 2020), containing in total 704 pregnant women, 354 pre-eclampsia patients and 350 uncomplicated, normal pregnancy. According to the results, the total pooled results of sensitivity, specificity, and DOR were as follows: 0.88 (95%CI: 0.86–0.90), 0.87 (95% CI: 0.85–0.89) and 57.54 (95% CI: 35.24–93.94) respectively. Moreover, subgroup analysis indicated that non plasma samples and non-Asian ethnicity had higher diagnostic value, however we didn't conduct a subgroup-analysis for the internal references subgroup due to inadequate data.

We conducted subgroup analysis, for diagnostic performance, on both ethnicity (Asian or non-Asian), and specimen source (plasma or non-plasma). The findings showed a better diagnostic values for non-Asian race than Asians with DOR, 60.32 vs 58.45 and AUC, 0.94 vs 0.93. In parallel, the non-plasma samples showed better diagnostic values than plasma specimen sources with DOR, 70.76 vs 35.45 and AUC 0.95 vs 0.92.

To sum up, our meta-analysis shows that circulating microRNAs serve as PE biomarkers due to their high sensitivity and specificity. It also showed that non-plasma samples and non-Asian race may have a higher diagnostic value for PE than the other groups. It is expected that our findings will be useful for future studies related to the microRNA role in diagnosing pre-eclampsia. We suggest further studies with different types of circulating microRNAs for better and broader diagnostic of PE. Furthermore, further research with a larger sample size are needed to explore its function in the pathophysiology of the Pre-eclampsia.

S. Timofeeva, T. Sherchkova

LONG CODING RNA INTERACTION WITH GENE *LDLR* ASSOCIATED WITH ATHEROSCLEROSIS

*Southern Federal University
Russia, 344006, Rostov-on-Don, 105/42 Bolshaya Sadovaya Str.
e-mail: timofeeva.sophia@gmail.com*

Atherosclerosis is a genetic disorder that leads to a significant increase in blood cholesterol levels, consequently, to an increase in mortality from coronary heart disease. Long noncoding RNAs (lncRNAs) have been shown to play an important regulatory role in the biology of cardiovascular diseases, including atherosclerosis. A recent target sequencing of genes responsible for atherosclerosis, performed by Mesitskaya et al. (Mesitskaya et al., 2020), revealed highly and specifically expressed transcript *LDLR*. LncRRISearch supplies multiple analyses of local base pairing interactions for each lncRNA-RNA interaction predicted by RIBlast. We conducted comprehensive predict analysis by LncRRISearch web server (Fukunaga et al., 2019) and identified 100 interactions between the *LDLR* gene (ENSG00000267690) and various lncRNAs. One of the main criteria used to identify the most likely interactions between the mRNA and the lncRNA is the minimum free energy (kcal/mol).

We selected interactions based on highlighted criteria and having a description of the transcript in NONCODE. Subsequently we analyzed selected lncRNA using the LncRNASNP2-human database (Miao et al., 2018), which provides information about lncRNA-miRNA interactions, and detected a number of miRNAs associated with identified lncRNA. Moreover, we found out in expression pattern results that. For the *LDLR* gene, we identified top 3 lncRNAs showed the highest probability of interaction with it: RP11-573D15.8-018 (ENST00000627551), AP006621.9-001 (ENST00000527021), RP11-95O2.5-001 (ENST00000589281). RP11-573D15.8-018 interacts with hsa-miR-766-3p and hsa-miR-1266-5p. AP006621.9-001 interacts with hsa-miR-532-3p, hsa-miR-1301-3p, hsa-miR-766-3p, hsa-miR-508-5p. RP11-95O2.5-001 interacts with hsa-miR-140-5p, hsa-miR-6767-3p, hsa-miR-4435, hsa-miR-6851-5p, hsa-miR-3689d, hsa-miR-7847-3p, hsa-miR-6076. As a result, we obtained functional maps and data, which may be useful for further research and identification of new possible diagnostic markers of atherosclerosis.

Dai Xiaoxuan, V. V. Grinev**PIPELINE FOR IDENTIFICATION, QUANTIFICATION AND ANNOTATION OF BACK-SPLICE JUNCTIONS IN THE TRANSCRIPTOME OF HUMAN CELLS**

*Belarusian State University
Nezavisimosti Avenue, 4, 220030, Minsk, Belarus
e-mail: grinev_vv@bsu.by*

Back splicing leads to formation of so-called circular RNAs (or circRNAs for short). It is new class of RNA molecules expressed in different types of human cells. Data on the mechanisms of formation of such RNAs, their structure, abundance per cell, and functional activity are rapidly generating. There are growing evidences that these molecules may play an important role in various cellular processes, including proliferation and differentiation. However, unfortunately, despite the clear progress in the study of circRNAs, a systematic understanding of their role in the normal and pathological state of cells, in particularly, cells of hematopoietic origin, has not yet been developed.

One of the main issues in the study of circRNAs is their detection using transcriptomic sequencing data. We used RNA-Seq data for leukemic and normal human blood cells. Our dataset included both our own previously published data and publicly available data. Herewith, in one dataset, we included data obtained on total RNA, total RNA with poly(A) selection as well as total RNA after RNase R treatment. In all these cases, ribosomal RNAs were depleted from the RNA samples. Additional RNase R treatment removes all variants of linear RNA molecules, which enriches the sample with circRNAs.

In our pipeline, pre-processing of above RNA-Seq data included quality assessment, trimming of adaptors and low-quality bases, deduplication, and filtration against low-quality reads. For each RNA-Seq sample, the filtered high-quality reads were further aligned to the GRCh38/hg38 human reference genome using the Burrows-Wheeler aligner and respective indices. Aligned and sorted reads were further used by the CIRI2 algorithm for identification of back-spliced junction reads. CIRI2 (circRNA identifier, version 2) is a novel chiastic clipping signal based algorithm written in Perl. We used this algorithm because it can unbiasedly and accurately detect circRNAs from transcriptomic data by employing multiple filtration strategies. At the next step, we re-aligned of back-spliced junction reads against pseudo circular reference and quantified these reads using Perl/Python-based package CIRIquant. Again, CIRIquant package was included in our pipeline because of its benefits in quantification of circRNAs. Finally, we included several complementary R/Bioconductor packages for comprehensive annotation of identified and quantified back-spliced junction reads/circRNAs.

With above described pipeline, we detected different number of circRNAs in our dataset. In general, we observed a progressive increase in the number of detected circRNAs towards RNase R treated RNA-Seq samples. In addition, inclusion in the pipeline of previously discovered circRNAs as a reference also increases the number of detected circRNAs in our samples. Thus, we have developed a workable pipeline that can be used in further studies of circRNAs in human cells.

БИОИНФОРМАТИКА. МЕТАГЕНОМИКА

Ш. А. Бегматов¹, В. В. Кадников¹, А. В. Марданов¹, А. В. Белецкий¹, А. П. Лукина²,
Л. Б. Глухова², О. В. Карначук², Н. В. Равин¹

ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ БИОРАЗНООБРАЗИЕ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ В ГОРНОМ АЛТАЕ

¹Институт биоинженерии ФИЦ Биотехнологии РАН
Россия, 117312, г. Москва, пр-т 60-летия Октября д. 7, корп. I
e-mail: shabegmatov@gmail.com

²Томский государственный университет
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36
e-mail: olga.karnachuk@green.tsu.ru

Микробиом желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) сельскохозяйственных животных выступает в качестве решающего фактора в их нормальной жизнедеятельности, обеспечивая переваривание пищи и усвоение питательных веществ. Микробные сообщества ЖКТ травоядных животных обеспечивают гидролиз сложных растительных полисахаридов, включая целлюлозу и различные гемицеллюлозы. Таксономический состав микробиома зависит от организации ЖКТ и характера питания животного. Последние годы исследования по изучению микробиоты кишечника сельскохозяйственных животных по всему миру ведутся активно, но в Российской Федерации такие исследования с использованием современных высокопроизводительных молекулярно-генетических методов остаются немногочисленными.

С целью изучения биоразнообразия микробных сообществ, ассоциированных с ЖКТ сельскохозяйственных животных, нами осуществлено профилирование состава микробиоты образцов фекалий 21 коровы породы «Галловей», 56 двугорбых верблюдов (*Camelus bactrianus*), 9 яков (*Bos mutus*) и 16 алтайских маралов (*Cervuselaphus sibiricus*) с помощью высокопроизводительного секвенирования фрагментов генов 16S рРНК (V3–V4 регион). Все изученные животные находились на свободном выпасе в горной местности на территории республики Алтай, их кормовая база в основном состояла из трудных для переваривания горных кустарников и растений.

Результаты профилирования показали, что во всех образцах фекалий доминируют представители филумов *Firmicutes* (более 50%) и *Bacteroidota* (19–33%). Общей особенностью верблюдов и яков было присутствие значительных долей метаногенных архей филума *Halobacterota* (в среднем соответственно 10% и 8%), у коров и маралов они составляли менее 2% микробиоты. *Proteobacteria* составляли около 6% микробиоты коров, существенно меньшие доли у верблюдов и маралов (2–3%) и практически отсутствовали у яков (0,2%). Особенностью микробиоты верблюдов было сравнительно высокое содержание представителей филума *Desulfobacterota* (около 3%). Результаты кластерного анализа микробиоты показали, что микробные сообщества разных видов животных кластеризуются в соответствии с видом животного, причем микробиоты коров породы «Галловей» и яков близки между собой, но значительно отличаются от микробиоты фекалий верблюдов.

Работа поддержана Минобрнауки России (соглашение № 075-15-2021-1401 от 03.11.2021г.).

П. В. Вычик, А. В. Дигрис, Е. И. Дувалов, В. В. Скакун, Е. А. Николайчик

РАЗРАБОТКА WEB-ИНСТРУМЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА БАКТЕРИАЛЬНЫХ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ

Белорусский государственный университет
Республика Беларусь, 220030, г. Минск, ул. Курчатова, 10
e-mail: p.vychik@gmail.com

Функциональная аннотация нуклеотидных последовательностей новых бактериальных геномов в большинстве случаев выполняется автоматическими конвейерами (например NCBI PGAP) на основании гомологии с кодирующими последовательностями экспериментально охарактеризованных белков и РНК, и поэтому чаще всего ограничивается аннотацией генов и их продуктов. Такой подход оставляет фактически незатронутым регуляторный компонент генома: гены транскрипционных факторов аннотируются лишь частично, а распознаваемые ими мишени (сайты связывания: операторы и промоторы) не аннотируются вообще. С учетом того, что (1) свойства клетки зависят от количеств синтезируемых в ней белков и (2) значительная часть генов (до половины и более) может вообще не экспрессироваться в конкретных условиях, качественная аннотация регуляторного компонента (промоторов, операторов, терминаторов и генов транскрипционных факторов) критична для корректной интерпретации геномной информации.

В рамках создания новой базы данных регуляторной информации BacRegDB разработаны три веб-инструмента для анализа регуляторной информации в бактериальных геномах:

1) Классификатор транскрипционных факторов использует коллекцию из 83 скрытых марковских моделей ДНК-связывающих доменов из баз данных PFAM, SMART, TIGRFAMs и 13 моделей, созданных в этой работе. Классификатор способен идентифицировать большинство ТФ и определить их принадлежность к конкретным семействам. Сравнение с имеющимися аналогичный функционал ресурсами показывает большую чувствительность разработанного классификатора. Так, для наиболее изученного модельного организма *Escherichia coli* известный ресурс P2TF определяет 273 транскрипционных фактора, тогда как наш классификатор — 303.

2) Аннотатор генома позволяет добавить аннотацию сайтов связывания одного транскрипционного фактора (включая сайты связывания сигма-факторов, т. е. промоторы) к файлу геномной последовательности в формате GenBank. Комбинируя классификатор с аннотатором, пользователь может получить полногеномную аннотацию регуляторных последовательностей.

3) Анализатор регуляторной области проверяет наличие сайтов связывания всех закодированных в геноме транскрипционных факторов в пределах регуляторной области одного гена. Этот инструмент позволяет быстро найти регуляторы конкретного гена без выполнения ресурсоемкого полногеномного анализа регуляторов и их мишеней.

Ключевая особенность обсуждаемых веб-инструментов и BacRegDB в целом — использование т. н. КО-тега (набора аминокислотных остатков ДНК-связывающего домена, непосредственно распознающих последовательность оператора) в качестве строгого формального критерия применимости регуляторной информации к исследуемому геному. Этот критерий делает наши инструменты универсальными и применимыми для любых бактерий, имеющих транскрипционные факторы с КО-тегами, представленными в базе данных.

А. Д. Герасимович, А. Э. Охремчук, Л. Н. Валентович, А. В. Сидоренко

АНАЛИЗ ГЕНОМА БАКТЕРИОФАГА *LACTOCOCCUS VIRUS* БИМ BV-114

Институт микробиологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220084, г. Минск, ул. Купревича, 2
e-mail: alexandra_88@tut.by

Инфицирование бактериофагами заквасочных культур *Lactococcus lactis* представляет серьезную проблему для молочной промышленности. В мировом масштабе на молочных заводах наиболее распространены 936-подобные фаги, однако в кисломолочных продуктах, произведенных в Республике Беларусь, преобладают фаги группы с2. Анализ генома лактофагов данной группы имеет большое значение для расширения представлений о генетических особенностях и разнообразии вирусов лактококков, а также усовершенствования методов контроля бактериофаговой инфекции.

Цель работы — анализ полной нуклеотидной последовательности генома с2-подобного бактериофага *Lactococcus virus* БИМ BV-114, выделенного из рассола для посолки сыров в Республике Беларусь.

Геном *Lactococcus virus* БИМ BV-114 представлен линейной двухцепочечной ДНК размером 21 499 п. н. с содержанием ГЦ-пар 35,9%. Кодированная область составляет 91% генома и содержит 37 открытых рамок считывания (ОРС), 18 из которых предположительно кодируют белки с известной функцией, 19 — гипотетические полипептиды. Области, кодирующие тРНК или мРНК, не обнаружены. Липкие концы хромосомы фага БИМ BV-114 идентичны последовательности *cos*-сайта *Lactococcus virus* с2. Вблизи *cos*-сайтов обнаружены 4 прямых и 1 инвертированный повторы, 2 палиндромные последовательности, 4 предполагаемых сайта связывания терминазы.

Гены *Lactococcus virus* БИМ BV-114 организованы в два противоположно ориентированных кластера, разделенных некодирующей областью, размером 609 п. н., ответственной за начало репликации бактериофага. Указанные кластеры предположительно содержат 20 ранних и 17 поздних ОРС. Кластер генов ранней экспрессии кодирует белки модуля репликации и рекомбинации, а также регуляторные белки. Область поздних генов кодирует белки, участвующие в упаковке, морфогенезе фага и лизисе бактерий.

По данным филогенетического анализа полногеномных последовательностей, *Lactococcus virus* БИМ BV-114 является представителем с2-подобных фагов в составе подгруппы с2, в которую входит в кластер с 10 лактофагами, выделенными в различных географических регионах из сырного рассола промышленного производства. Геном *Lactococcus virus* БИМ BV-114 характеризуется максимальным сходством с с2-подобным фагом СНРС1242 (94,3%). Белки, предположительно синтезирующиеся в поздней фазе репликативного цикла фагов БИМ BV-114 и СНРС1242, и белки, предположительно синтезирующиеся на ранней стадии инфекционного цикла фагов БИМ BV-114 и СНРС1170, содержат 94–99% идентичных аминокислотных остатков. В сравнении с типовым фагом *Lactococcus virus* с2, наибольшее сходство нуклеотидных последовательностей (более 90%) наблюдается для генов, предположительно кодирующих 3 структурных полипептида, а также белки большой субъединицы терминазы и ДНК-хеликазы. В геноме *Lactococcus virus* БИМ BV-114 выявлен ген, предположительно кодирующий SaV белок, который отвечает за чувствительность фага к механизму abortивной инфекции бактерии-хозяина AbiV, а также ген, предположительно кодирующий гипотетический белок, с которым связана устойчивость бактериофага к механизму abortивной инфекции AbiQ.

С. Е. Дромашко^{1,2}, О. Д. Левданский¹, Ф. Л. Лобков³

НОВЫЙ ПАЙПЛАЙН ДЛЯ ОБРАБОТКИ ДАННЫХ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИХ ГЕНОМОВ РАСТЕНИЙ

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси

Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27

e-mails: s.dromashko@igc.by, o.liaudanski@igc.by

²Университет НАН Беларуси

Республика Беларусь, 220070, г. Минск, ул. Радиальная, 38Б

³Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова БГУ

Республика Беларусь, 220070, г. Минск, ул. Долгобродская, 23

e-mail: test0511@mail.ru

Развитие молекулярно-генетических и информационных технологий ставит вопрос создания таких биоинформатических продуктов, которые позволили бы полностью автоматизировать процесс обработки огромных массивов данных, полученных в рамках технологий секвенирования нового поколения NGS. Целью данной работы явилась разработка такого компьютерного продукта, как пайплайн, или конвейер данных, который в общем случае представляет собой набор элементов обработки данных, соединенных последовательно, где выход одного элемента является входом следующего. Входными данными для пайплайна стали «сырые» нуклеотидные последовательности, полученные в ходе секвенирования ДНК агрокультурного растения ячменя *Hordeum vulgare subsp.* (код генома данного растения — NC_008590.1), хранящиеся в формате FASTQ. Выходными данными являются обработанные пайплайном новые данные в формате вызова вариантов VCF.

В области биоинформатики основной используемой операционной системой (ОС) является Linux. Нами была выбрана версия Ubuntu Linux 21.10 — дистрибутив ОС Linux, основанный на Debian GNU/Linux. В качестве системы управления рабочим пространством анализа данных мы выбрали такой инструмент, как Snakemake с использованием доменного языка DSL. Snakemake позволяет исследователю проводить анализ данных, который обладает всеми свойствами, обеспечивающими воспроизводимость, прозрачность и адаптивность. Инструментом, используемым для проведения фильтрации и тримминга («выщипывания») первичных «сырых» данных о нуклеотидных последовательностях, является Trimmomatic. Нами использована его версия TrimmomaticPE (Trimmomatic Paired-End) — гибкий инструмент обрезки считывания для данных Illumina NGS. После фильтрации первичных данных осуществляется выравнивание прочтений-«ридов» на референсную последовательность, которую скачивают из Интернета с баз данных нуклеотидных последовательностей, например, NCBI или Ensemblgenome. Одним из заключительных этапов является вызов вариантов — основная задача, которая должна выполняться пайплайном в ходе его выполнения.

Таким образом, в итоге данной работы разработан пайплайн для обработки данных высокопроизводительного секвенирования цитоплазматических геномов растений ячменя *Hordeum vulgare subsp.* Это позволило автоматизировать и оптимизировать процесс обработки данных в Секторе биоинформатики Института генетики и цитологии НАН Беларуси. Достоинством разработанного пайплайна является также то, что его можно использовать для любых небольших геномов растений разных видов, для которых есть соответствующая референсная последовательность.

О. В. Евдокимова, Е. А. Семенчукова, М. А. Сиколенко

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНОМОВ БАКТЕРИЙ *BACILLUS SAFENSIS*

Институт микробиологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220084, г. Минск, ул. Академика Купревича, 2
e-mail: evdokimovalesia@gmail.com

В связи с наблюдающимися случаями проявления патогенных свойств бактериями, считавшимися непатогенными, остается актуальным вопрос о более детальном изучении наследственности таких штаммов. Сравнительный анализ бактериальных геномов позволяет выявлять различия между родственными бактериями и предоставляет ценную информацию о возможных физиологических реакциях и эволюции бактерий. В данной работе мы сравнивали полногеномные последовательности двух штаммов *Bacillus safensis*: 33.4, выделенного из пораженных растений томата и вызывающего симптомы заболевания у растений в лабораторных тестах, и F6, не проявляющего фитопатогенные свойства. Целью работы являлось идентифицировать регионы генома, которые присутствуют только в фитопатогенном штамме и могут быть ассоциированы с адаптацией штамма к паразитическому образу жизни.

Геном *Bacillus safensis* 33.4 состоит из одной кольцевой хромосомы размером 3 851 064 п. н. с содержанием ГЦ-пар 41,39% и кольцевой плазмиды 7 753 п. н. (код доступа CP106652.1 и CP106653.1, соответственно), в то время как штамм F6 содержит только хромосомную ДНК 3 782 236 п. н. и содержит 41,5% ГЦ-пар (код доступа CP069061.1). В результате выравнивания между консервативными блоками были выявлены один протяженный локус и ряд небольших фрагментов хромосомы штамма 33.4, не имеющих сходства с последовательностью генома F6. В самом длинном отличающемся участке генома штамма 33.4 идентифицирована интактная профаговая область, которая имеет высокую степень сходства с умеренным бациллярным фагом SPbeta. Гены, кодирующие факторы вирулентности патогенных бактерий, часто ассоциируются с профагами, кроме того, при лизогенном образе жизни некоторые регуляторные гены и гены лизогенной конверсии продолжают экспрессироваться и могут вызывать фенотипические изменения хозяина, в том числе повышение патогенности и расширение метаболических возможностей. Еще один локус хромосомы 33.4, включающий гены фаговых белков, содержит предсказанные последовательности регулятора транскрипции семейства MerR, глутамат-аммиачной лигазы I типа, белка семейства SMI1/KNR4 и нескольких гипотетических белков. Известно, что глутаминсинтетаза вносит вклад в вирулентность *Streptococcus suis* серотипа 2, а также является мишенью препаратов против туберкулезной инфекции, однако данный фермент продуцируется и непатогенными бактериями семейства *Bifidobacteriaceae*. Также в геноме идентифицирован ряд локусов и отдельных кодирующих белки последовательностей, которые отсутствуют в геноме F6, но представлены у близкородственных представителей группы *B. pumilus*, в том числе предсказанные компоненты системы рестрикции-модификации; регион, включающий ацилпереносящие белки, аминогликозидфосфотрансферазу и мембранный транспортер; ABC-, EamA- транспортеры; 3-гексулозо-6-фосфатсинтаза, альфа/бета-гидролазы, белки устойчивости к блеомицину и неохарактеризованные белки. Выявленные генетические детерминанты генома штамма 33.4, за исключением хорошо изученных и не ассоциированных с патогенезом, могут служить мишенями для направленного мутагенеза. Плазмидная ДНК относится к криптическим и содержит две идентифицированные белок кодирующие последовательности (Rep и Par белки), а также пять ОРС для гипотетических белков.

Я. П. Кононович, В. Р. Вертелко, Ю. В. Бондаренко, Н. В. Воронова

ГЕНОМ *BUCHNERA APHIDICOLA* MUNSON ET AL., 1991 — ОБЛИГАТНОГО СИМБИОНТА ТЛЕЙ, И ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В ФИЛОГЕНИИ

Белорусский государственный университет
Республика Беларусь, 220030, г. Минск, пр. Независимости, 4
e-mail: yana.kananovich@gmail.com

Buchnera aphidicola — это внутриклеточный бактериальный симбионт тлей, который обеспечивает насекомых аминокислотами, присутствующими в их пищи в недостаточном количестве. В настоящее время известно, что *B. aphidicola* может иметь геномы двух типов: большой, размером около 650 тыс. п. н. и редуцированный, размером 400 тыс. п. н. При этом *B. aphidicola* с малым геномом всегда присутствует в насекомом хозяине в комплексе с так называемыми «дополняющими» симбионтами других видов.

В нашей работе мы приводим результаты секвенирования 5 геномов *B. aphidicola* из тлей фауны Беларуси, а именно штаммов из *Brevicoryne brassicae*, *Macrosiphum albifrons*, *Acyrtosiphon caraganae*, *Aphis craccivora*, *Myzus persicae*.

Все геномы *B. aphidicola* из тлей фауны Беларуси имеют крупный геном и типичную структуру. Во всех случаях обнаружены плазмиды *pLeu* и *pTrp*. Состав генома демонстрирует высокую консервативность с почти полной синтением.

Проведена полная функциональная аннотация геномов, а также филогенетический анализ геномных последовательностей *B. aphidicola* из 61 вида тлей.

Филогенетический анализ показал, что, несмотря на консервативность, геномы *B. aphidicola* обладают высокой разрешающей способностью. Полученные филогенетические деревья конгруэнтны с филогенетическими отношениями насекомых-хозяев.

О. Д. Левданский, Е. А. Мишук, П. В. Пашкевич

CNV АНАЛИЗ ДАННЫХ ПАЦИЕНТОВ С РАЗЛИЧНЫМИ ТИПАМИ ПАТОЛОГИИ

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: o.liaudanski@igc.by*

В настоящее время в области клинической диагностики все большее распространение получают методы высокопроизводительного секвенирования нуклеотидных последовательностей экзомов (клинических экзомов). Однако рутинная обработка результатов таких исследований зачастую направлена сугубо на поиск однонуклеотидных полиморфных локусов и коротких инсерций и делеций. При этом частота обнаружения патогенных мутаций для большинства пациентов редко превышает 30–40%. Это, в свою очередь, обуславливает актуальность поиска альтернативных маркеров, ассоциированных с тем или иным типом патологии. Одним из типов таких маркеров может служить CNV полиморфизм. В данном исследовании был проведен поиск ассоциаций CNV локусов с рядом наследственных патологий.

Был проведен CNV анализ данных секвенирования последовательностей экзомов и клинических экзомов пациентов с невынашиванием при беременности (55), эпилепсией (52), наследственной патологией почек (68) и кардиопатологией (44), а также индивидов контрольной выборки без диагностированных наследственных заболеваний (63). Перечень использованного ПО: FastQC, Trimmomatic, BWA, samtools, bedtools, GATK (пакет AddOrReplaceReadGroups), ClinCnv, R (пакет CNVRanger), Python (библиотеки numpy, seaborn, pandas). Используемые скрипты доступны по ссылке <https://github.com/IGC-bioinf/cnv>.

В результате анализа для каждого из включенных в исследование типов патологии был получен список CNV локусов с достоверно различающейся частотой встречаемости по сравнению с контрольной группой. Локусы с наибольшей степенью различия в частотах представляют собой потенциальные маркеры, ассоциированные с соответствующей патологией.

Наиболее интересные результаты были получены для пациентов с невынашиванием при беременности. Так, из 30 локусов с наиболее высоким уровнем достоверности различий, 20 локализованы в различных генах *ZNF* (19 хромосома), кодирующих белки, содержащие домен «цинкового пальца» (zink-finger protein). При этом все данные локусы являются дупликациями и со значительно большей частотой встречаются в контрольной группе. Полученные данные позволяют предположить, что дупликации в генах *ZNF* являются потенциальными маркерами снижения риска развития невынашивания при беременности. Помимо генов *ZNF*, достоверно более часто встречающиеся среди индивидов без патологии дупликации были выявлены в генах *NBPF1*, *SYTL2*, *ANKRD20A2* и *FAM75A6*. Также было показано, что делеции, затрагивающие гены *RAPGEF5*, *COG6*, *ZEB2*, *DST*, *MACF1* и *DDX11*, достоверно чаще обнаруживаются среди пациентов с невынашиванием. Последние являются потенциальными маркерами повышенного риска развития данной патологии.

Таким образом, CNV анализ является удобным и актуальным инструментом для поиска потенциальных маркеров, ассоциированных с интересующими исследователя заболеваниями.

С. С. Левыкина, П. Е. Александрович, Н. В. Воронова

НЕКОДИРУЮЩИЕ ОБЛАСТИ В МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ГЕНОМАХ НАСТОЯЩИХ ТЛЕЙ (ЛАТ. ARHIDIDAE)

*Белорусский государственный университет
Республика Беларусь, 220030, г. Минск, ул. Курчатова, 10
e-mail: s.lewykina@yandex.by*

Настоящие тли — семейство из отряда полужесткокрылых насекомых, представители которого являются фитофагами. В перечень растений, которые тли используют в качестве кормовых, входят виды, широко используемые на территории Республики Беларусь для сельскохозяйственных, декоративных, а также лекарственных целей. Основным ущерб представители этого таксона наносят из-за способности вырабатывать устойчивость к инсектицидам и быстро увеличивать численность популяции путем партеногенетического размножения. Как следствие, из-за быстрого темпа роста популяций проблемой становится широкое распространение инвазивных видов тлей, что увеличивает ежегодный ущерб выращиваемым культурам. Такие биологические особенности тлей делают их уникальной моделью для изучения микроэволюционных процессов.

Установлено, что митохондриальный геном тлей как по структуре, так и по нуклеотидному составу является высококонсервативным и схож с предковой формой митогеномов насекомых, поэтому любые генные транслокации или отклонения по процентному содержанию азотистых оснований рассматриваются как важный эволюционный и филогенетический признак. Две некодирующие области, входящие в структуру митохондриального генома — регион tandemных повторов и область формирования D-петли — являются самыми вариабельными и малоизученными участками. Происхождение этих участков до сих пор является темой для дискуссий.

Исследуя митохондриальные геномы 9 видов тлей, собранных и аннотированных нами, мы обнаружили, что программные пакеты, осуществляющие автоматическую аннотацию, не всегда выделяют регион повторов, обозначая данный участок как длинный межгенный спейсер, хотя tandemные повторы в нем можно обнаружить при детальном анализе. Заинтересовавшись этой ситуацией, поскольку не во всех доступных для исследований митохондриальных геномах данный регион был обозначен в аннотации, мы решили исследовать все некодирующие участки размером более 80 п. н. (минимальный размер участка был выбран в соответствии с наименьшим найденным межгенным спейсером в предполагаемом месте локализации региона повторов), чтобы понять, действительно ли в некоторых из митохондриальных геномов нет региона, насыщенного tandemными повторами.

Был проведен анализ некодирующих участков в 58 митохондриальных геномах тлей, 49 из которых были извлечены из генетической базы данных GenBank. Было отмечено, что некодирующий участок обозначали как регион повторов в случае, если размер tandemных повторов в нем был равен или превышал 20 п. н. Поиск tandemных повторов проводили при помощи программы UGENE.

Изначально регион повторов в аннотации был отмечен в 25 митохондриальных геномах, из которых 6 были депонированы нами. В 27 митогеномах длинные межгенные спейсеры либо отсутствовали, либо повторы в них не превышали 20 п. н., в том числе в 3 наших митохондриальных геномах. В 6 митохондриальных геномах в аннотации регион повторов отсутствовал, однако tandemные повторы были обнаружены в некодирующих участках: в 2 случаях в ожидаемой локализации (между геном *tRNA-E* и *tRNA-F*), в 4 — транслоцированный в участки между близлежащими генами.

Таким образом, зачастую оказывается недостаточным использование только информационных ресурсов без валидации данных экспертом в конкретной области.

Е. Н. Макеева, А. Н. Кузьмич

РАЗВИТИЕ ПРАВОВОГО РЕГУЛИРОВАНИЯ ДОСТУПА К ГЕНЕТИЧЕСКИМ РЕСУРСАМ НА НАЦИОНАЛЬНОМ УРОВНЕ

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: emakeyeva@igc.by, andrei.kuzmich@igc.by*

В настоящее время правовые основы и организационные механизмы доступа к генетическим ресурсам и совместного использования выгод определяются международными обязательствами Республики Беларусь по Нагойскому протоколу регулирования доступа к генетическим ресурсам и совместного использования на справедливой и равной основе выгод от их применения к Конвенции о биологическом разнообразии.

Научные и производственные организации страны в рамках совместных международных проектов обмениваются биологическим материалом, имеющим определенные ценные генетические характеристики. В фармацевтической и парфюмерной отраслях около 40 процентов всего ассортимента продукции изготавливается с применением натуральных компонентов, полученных из генетических ресурсов растительного и животного происхождения, доступ к которым регулируется положениями Нагойского протокола.

В настоящее время на территории Беларуси известно около 11,5 тыс. видов дикорастущих растений и грибов, более 2 тыс. видов культурных растений и интродуцентов; 303 вида дикорастущих растений и 202 вида диких животных включены в Красную книгу Республики Беларусь как редкие и находящиеся под угрозой исчезновения. По данным государственного кадастра растительного мира Республики Беларусь, биологический запас дикорастущих хозяйственно-полезных растений и грибов составляет 1,9 млн тонн, биологический запас дикорастущих лекарственных растений — более 830 тыс. тонн, пищевых — свыше 110 тыс. тонн. Генетическое разнообразие животного мира представлено 508 видами позвоночных и более чем 30 тыс. видов беспозвоночных животных различных групп. Дикие и сельскохозяйственные животные, а также животные, содержащиеся в условиях зоокультуры, используются для производства продуктов питания. Республика Беларусь вправе получать выгоды от использования генетических ресурсов, надлежащей передачи соответствующих технологий, учитывая все права на данные ресурсы и технологии, надлежащее финансирование, содействуя таким образом сохранению биологического разнообразия и устойчивому использованию его компонентов.

Сравнительный анализ положений Нагойского протокола и законодательства Республики Беларусь выявил недостаточный уровень правового регулирования отношений при предоставлении доступа к генетическим ресурсам заинтересованным лицам иных стран об отсутствии правовых обязательств, связанных с получением выгод от использования указанных ресурсов. В связи с этим начата разработка проекта Закона Республики Беларусь «Об обращении с генетическими ресурсами» для комплексного регулирования отношений в области обеспечения доступа к генетическим ресурсам и совместного использования выгод от их применения, определения принципов и установления правовых основ доступа к генетическим ресурсам, механизмов мониторинга использования генетических ресурсов иностранного государства, компетенции Главы государства, Совета Министров Республики Беларусь, иных государственных органов в области обращения с генетическими ресурсами и Национального координационного центра по вопросам доступа к генетическим ресурсам и совместного использования выгод (НКЦГР) Института генетики и цитологии НАН Беларуси.

А. А. Муратова, Е. В. Охремчук

**АНАЛИЗ ГЕНОМА ТЕРМОФИЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ
SUTCLIFFIELLA HORIKOSHII BAT**

Институт микробиологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220084, г. Минск, ул. Купревича, 2
e-mail: anya.muratova.93@mail.ru

Бактерии вида *Sutcliffiella horikoshii* являются алкалофильными, аэробными, эндоспорообразующими микроорганизмами. Первая полногеномная последовательность представителя данного вида, штамм *S. horikoshii* 20a, была депонирована в базу данных GenBank в 2017 году исследователями из Мексики. В свою очередь, сотрудниками лаборатории «Центр аналитических и генно-инженерных исследований» Института микробиологии НАН Беларуси в 2018 году выделен штамм *S. horikoshii* BAT. Отличительной особенностью данного штамма является способность расти при температурах до 46 °С в олиготрофных условиях. Для молекулярно-генетического анализа и выявления генов, связанных с метаболическими способностями, необходимо проведение всестороннего анализа полногеномной последовательности микроорганизма. Таким образом, целью данного исследования являлась оценка метаболического потенциала термофильных бактерий *S. horikoshii* BAT на основе анализа нуклеотидной последовательности генома изучаемого штамма.

Проведено полногеномное секвенирование штамма *S. horikoshii* BAT (номер в Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов — БИМ В-1584). Нуклеотидная последовательность хромосомы исследуемого штамма депонирована в базу данных GenBank под номером CP082918 и является второй последовательностью в данной базе с полной геномной сборкой изучаемого вида. Геном штамма BAT представлен кольцевой хромосомой размером 4 311 194 п. н. с содержанием ГЦ-пар 40,65%, также имеется три кольцевые плазмиды: pBH-BAT-10 (CP082919), pBH-BAT-15 (CP082920), pBH-BAT-167 (CP082921). Определено 4 569 генов, из которых 4 453 аннотированы в виде белок-кодирующих последовательностей, 30 псевдогенов, 84 гена tРНК, 5 генов некодирующей РНК и 27 генов рРНК. В геноме штамма *S. horikoshii* BAT расположены 6 копий гена транспозазы семейства IS3 и одна — семейства IS1182. Также выявлена одна неполная фаговая последовательность, схожая с фагом Bacill_phBC6A52. Значительный интерес представляет антагонистический потенциал бактерий *S. horikoshii* BAT. В геноме выявлено пять локусов синтеза вторичных метаболитов с предсказанной антимикробной активностью. Для первого и второго локусов предсказана функция синтеза терпенов, а для третьего — поликетидсинтазы. Четвертый локус представлен кластером генов, которые предположительно отвечают за синтез сидерофора, подобного петробактину. Пятая область содержит гены биосинтеза нового лассо-пептида, подобного пенинодину, впервые обнаруженного в 2016 году у бактерий *Paenibacillus dendritiformis* C454. Лассо-пептиды — это класс рибосомально синтезируемых и посттрансляционно модифицированных пептидов, которые до сих пор были выделены только из протео- и актинобактерий. Следует отметить, что ряд лассо-пептидов обладает противомикробной и противовирусной активностью, а также некоторые представители данного класса соединений являются антагонистами рецепторов глюкогона BI-32169 и могут действовать как ингибиторы определенных ферментов (протеаз, киназ и др.). Таким образом, бактерии *S. horikoshii* BAT обладают значительным антагонистическим потенциалом и могут быть рассмотрены в качестве основы для создания биопрепаратов нового поколения.

А. Э. Охремчук, Л. Н. Валентович

СЕКВЕНИРОВАНИЕ И ПЕРВИЧНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНОМА *DIETZIA KUNJAMENSIS* 313

Институт микробиологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220084, г. Минск, ул. Купревича, 2
e-mail: akhremchuk@bio.bsu.by

Dietzia kunjamensis 313 является представителем вида аэробных грамположительных неспорообразующих бактерий. Клетки бактерий данного штамма синтезируют оранжево-красный пигмент, что обуславливает соответствующую окраску колоний. Культура бактерий *D. kunjamensis* 313 выделена из открытого контейнера для испарения воды, в котором поддерживается повышенная температура. Можно предположить, что бактерии, выделенные из подобного биотопа, являются термотолерантными и устойчивыми ко ксерическому стрессу. Биохимические пути и ферменты таких организмов активно изучаются и используются в различных биотехнологических процессах.

Целью данной работы являлось секвенирование, сборка и первичный анализ генома бактерий *D. kunjamensis* 313.

Для выделения геномной ДНК использовали набор Bacteria DNA Preparation — Solution Kit (Jena Bioscience, PP-206). Секвенирование проводили на платформах MiSeq (Illumina) и MinION (Oxford Nanopore Technologies). Для приготовления библиотек фрагментов ДНК использовали наборы NEBNext (M0834S, E7645S, E6609S) и Ligation Sequencing Kit (SQK-LSK109) соответственно. Сборку проводили с использованием программ Barapost v. 2021-11-19-edition; Flye v.2.9-b1768 и SPAdes v. 3.15.4. Полученное покрытие составило 500х. В ходе сборки выявлен локус (координаты 2 843 234–2 843 251 п. н.), который представлен полицитозиновой последовательностью. Для установления точной длины гомополимерного участка амплифицировали фрагмент ДНК с использованием праймеров 313pG-F (gtttctatgcgttctcagtcgg) и 313pG-R (cacattctcagcgagatgcc), клонировали фрагмент в составе плазмиды pJET1.2. и секвенировали с помощью прибора LI-COR 4300 DNA Analyzer.

Таким образом, в ходе работы получена первая полногеномная последовательность представителя вида *D. kunjamensis*. Геномная последовательность штамма *D. kunjamensis* 313 депонирована в GenBank, номера для доступа: CP099712-CP099716. Геном *D. kunjamensis* 313 представлен кольцевой хромосомой (3 698 013 п. н., 70% ГЦ) и четырьмя кольцевыми плазмидами: pDK313-58 (58 638 п. н., 66% ГЦ), pDK313-79 (79 399 п. н., 65% ГЦ), pDK313-83 (83 561 п. н., 66% ГЦ) и pDK313-98 (98 201 п. н., 66% ГЦ). В составе хромосомы идентифицировано 3 753 кодирующих последовательности, из них 3 665 кодируют белок. Предсказано 50 генов тРНК и 3 гена нкРНК, 9 генов рРНК образуют три кластера.

Для дальнейшей работы планируется провести отбор локусов, инсерция в которые не будет приводить к изменению основного фенотипа бактерий *D. kunjamensis* 313. К таковым относятся, например, последовательности транспозонов и IS-элементов. В ходе первичного анализа предсказано 14 генов транспозаз, среди которых будут отобраны мишени для внесения меток в хромосому.

С. А. Петров, А. М. Субботин, М. В. Нарушко, А. А. Кастинов, В. А. Мальчевский

К ВОПРОСУ О ЗАВИСИМОСТЯХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ МИКРООРГАНИЗМОВ ОТ МЕСТА ИХ ОБИТАНИЯ В ДИСПЕРСНЫХ ОБВОДНЕННЫХ ПОРОДАХ, ПЕРЕШЕДШИХ В МЕРЗЛОЕ СОСТОЯНИЕ

Федеральное государственное бюджетное учреждение наук Федеральный исследовательский центр Тюменский научный центр Сибирского отделения РАН
Российская Федерация, 625026, г. Тюмень, ул. Малыгина д. 86
e-mail: malchevski@mail.ru

Дисперсные обводненные породы, перешедшие в мерзлое состояние, характеризуются своей значительной связанностью: сцементированностью частиц скелета льдом и наличием криогенной структуры. Они являются экстремальной средой для проживания микроорганизмов. Переход от слоистой к массивной криогенной структуре дисперсных обводненных пород сопровождается уменьшением почти в два раза их влажности, а также повышением в два раза температуры и pH грунта.

Цель работы: выявить взаимосвязи между генетическими особенностями микроорганизмов и местом их обитания в дисперсных обводненных породах, перешедших в мерзлое состояние.

Микробиологический анализ дисперсных обводненных пород, перешедших в мерзлое состояние, был проведен с использованием секвенирования последовательностей нуклеотидов в гене 16S рРНК с использованием генетической базы данных GenBank. Выявлено, что при переходе от слоистой к массивной криогенной структуре в дисперсных обводненных породах, перешедших в мерзлое состояние, у микроорганизмов увеличивается количество пиримидиновых олигонуклеотидных последовательностей ($y = 11,433x + 454,78$ при $R^2 = 0,9218$); тимидиловых нуклеотидных остатков ($y = 0,18x + 45,73$ при $R^2 = 0,75$) в основном за счет аденина ($y = 0,17x + 24,903$ при $R^2 = 0,4286$) с уменьшением количества цитидиловых нуклеотидных остатков ($y = -0,18x + 54,27$ при $R^2 = 0,75$) при сохранении ГЦ-типа нуклеотидного состава rRNA, характерного для микроорганизмов. Микробиологический состав слоистой криогенной структуры дисперсных обводненных пород, перешедших в мерзлое состояние, в основном представлен референтными штаммами *Acinetobacter* sp., *Enterococcus faecalis*, *Bacillus megaterium*, переходной криогенной структуры — *Bordetella avium* or *bronchis*, *Bacillus megaterium*, *Kocuria rhizophila*, массивной — *Bordetella avium* or *bronchis*. Большая часть бактерий в дисперсных обводненных породах, перешедших в мерзлое состояние, представлена классом Bacilli (46,5%), семейством *Bacillaceae*, родом *Bacillus*, известные представители которого являются аэробами или факультативными анаэробами. На втором месте по распространенности (приблизительно 38,46% всех последовательностей 16S рРНК) были бактерии класса Gammaproteobacteria и большинство из них принадлежали к семейству *Pseudomonadaceae*, роду *Pseudomonas*, известные представители которых являются сапрофитами и патогенами.

Таким образом, степень сблоченности нуклеотидов в 16S рРНК изученных бактерий специфична в межвидовом аспекте. Зафиксированы различия в структуре геномов исследуемых микроорганизмов в зависимости от криогенной структуры дисперсных обводненных пород, перешедших в мерзлое состояние, заключающиеся в соотношении тимидиловых и цитидиловых нуклеотидных остатков, обусловленные главным образом контрастами в содержании коротких тимидиловых блоков, состоящих из 2 атомов азота и 4 атомов углерода. С увеличением глубины залегания блочная структура 16S рРНК имеет векторный характер. Выявлена микробная эволюция генома бактерий, исходя из анализа соотношений цитидиловых и тимидиловых остатков в изоплитах 16S рРНК бактерий в зависимости от места их обитания в дисперсных обводненных породах, перешедших в мерзлое состояние.

Л. И. Сапунова¹, И. О. Тамкович¹, Л. В. Ерхова¹, Д. Г. Бамбиза¹, И. М. Лойко²,
Н. В. Халько²

ПОЛУЧЕНИЕ И СВОЙСТВА β -ФРУКТОФУРАНОЗИДАЗЫ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*, ВОСТРЕБОВАННОЙ ДЛЯ ИНВЕРСИИ САХАРОЗЫ

¹Институт микробиологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220084, г. Минск, ул. акад. В. Ф. Купревича, 2
e-mail: leonida@mbio.bas-net.by

²Гродненский государственный аграрный университет
Республика Беларусь, 230008, г. Гродно, ул. Терешковой, 28
e-mail: inna.loko@mail.ru

Стимулом прогнозируемого роста рынка β -фруктофуранозидазы (2,1- β -D-фруктофуранозид-фруктогидролаза, КФ 3.2.1.26) до 2026 года является обширная область ее практического применения, включающая пищевую и химическую промышленность, медицину, фармацевтику, кормопроизводство, научные исследования. Ключевыми игроками в названном сегменте рынка ферментных препаратов являются компании Дании (Koninklijke DSM NV, Novozymes), Германии (Stern Enzym GmbH & Co. KG, Evocatal GmbH), США (BIO-CAT, MP Biomedicals LLC, Centerchem), Великобритании (Sigma-Aldrich Co. LLC, Philip Harris), Ирландии (Kerry Inc., Megazyme Inc.), Испании (Canvax Biotech), Индии (Meteoric Exim Private Limited, Parchem Fine & Specialty Chemicals) и др. Большинство упомянутых производителей поставляют фермент высокой степени очистки в качестве реагента для научных и диагностических целей, протеомного анализа. Основная доля рынка β -фруктофуранозидазы для пищевой промышленности принадлежит Северной Америке, однако ожидается увеличение ее выпуска в Азиатско-Тихоокеанском регионе, что связано с поощрением на государственном уровне теоретических исследований и практических разработок в названной области.

В Республике Беларусь, как, за редким исключением, и в других странах евразийского экономического сообщества, крупномасштабное микробиологическое производство β -фруктофуранозидазы не налажено, хотя востребованность фермента и выпускаемых с его использованием инвертных сиропов постоянно растет. Дефицит востребованной на внутреннем рынке β -фруктофуранозидазы ведет к увеличению потребления аналогичной импортной продукции и повышению цены на нее. Поэтому создание отечественной биотехнологии получения препарата β -фруктофуранозидазы является актуальной для страны задачей.

В Институте микробиологии НАН Беларуси в сотрудничестве с Гродненским государственным аграрным университетом ведется разработка опытно-промышленной технологии производства β -фруктофуранозидазы с использованием нового штамма дрожжевого гриба *Saccharomyces cerevisiae*. Получены опытные партии биокатализатора, определены свойства ферментного белка, существенные для проведения процесса инверсии сахарозы. Установлена относительно высокая скорость гидролиза концентрированных растворов дисахарида β -фруктофуранозидазой *Saccharomyces cerevisiae* в широком диапазоне активной кислотности среды (pH 3,5–7,0) и температуры (20–70 °C), максимальная — при pH 4,5–5,0 и 30 °C. Процесс ферментативного получения инвертного сахарного сиропа концентрацией 70% в оптимальных для действия β -фруктофуранозидазы условиях полностью завершается в течение 24–26 ч.

Таким образом, разрабатываемый на основе нового штамма *Saccharomyces cerevisiae* импортозамещающий препарат β -фруктофуранозидазы по эффективности действия сопоставим с известными на рынке препаратами Invertase® (Novozymes, Дания), «ПЧЕЛИТ» и «ПЧЕЛИТ-АКТИВ» (ООО НПП «Трис», Россия) и может быть использован для получения инвертных сахарных сиропов различного назначения.

М. А. Сиколенко, Л. Н. Валентович

ПРОБЛЕМА НОРМАЛИЗАЦИИ ОТНОСИТЕЛЬНОЙ ПРЕДСТАВЛЕННОСТИ ТАКСОНОВ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРИ АНАЛИЗЕ 16S МЕТАГЕНОМНЫХ ОБРАЗЦОВ

Институт микробиологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220084, г. Минск, ул. Купревича, 2
e-mail: sikolenko@bio.bsu.by

Одной из задач, решаемой с помощью метагеномики, является определение таксономического состава сообществ микроорганизмов. Оно осуществляется путем секвенирования ампликонов участков генов 16S рРНК, получаемых из природных образцов, и последующей таксономической классификации прочитанных последовательностей. Результаты таких экспериментов подвержены систематическим ошибкам, искажающим искомые значения относительной распространенности (a_i) таксонов. Одним из источников подобных ошибок является тот факт, что клетки различных микроорганизмов содержат различное количество (g_i) генов 16S рРНК в своих геномах. Таким образом, при прочих равных таксонам с большим g_i присваиваются ложно завышенные значения a_i .

Очевидное решение проблемы — нормировать a_i на g_i . Действительно, существует по крайней мере 3 компьютерные программы, которые выполняют такое нормирование (PICRUSt2, CopyRighter и PAPRICA). Однако единственная описанная в литературе оценка эффективности работы этих программ демонстрирует низкую способность данных программ приближать значения a_i к истинным (S. Louca et al., 2018).

Основная проблема заключается в том, что для многих экспериментально получаемых последовательностей маркерных генов (гипотетических таксонов) значения g_i неизвестны. Неизвестны они бывают по трем причинам. Во-первых, степень изменчивости признака g_i высока; например, у бактерий рода *Tubebacillus* различия в числе копий гена 16S рРНК достигают десяти. Во-вторых, получаемых при секвенировании отдельных участков генов 16S рРНК часто недостаточно для того, чтобы классифицировать последовательность даже до уровня рода. В-третьих, геномы большинства существующих микроорганизмов не секвенированы и, следовательно, их g_i неизвестны.

Все три вышеуказанные программы для нормирования используют базы данных, составленные в начале 2010-х годов и уступающие современным в количестве представленных организмов. Возможно, что этот фактор является лимитирующим для эффективности нормирования a_i на g_i и что со временем, по мере накопления полностью секвенированных геномов микроорганизмов, искажающий эффект от упомянутой выше третьей причины приблизится к нулю.

Проверить данное предположение можно, используя созданную нами ранее базу данных RiboGrove (<http://mbio.bas-net.by/cager/ru/ribogrove>). RiboGrove — база данных полноразмерных последовательностей генов 16S рРНК бактерий и архей. Последовательности генов в RiboGrove взяты из геномов, хранящихся в базе данных RefSeq — наиболее обширном на сегодняшний день общедоступном источнике полностью собранных геномов. Идея планируемой проверки заключается в том, чтобы оценить эффективность существующих алгоритмов нормализации, используя RiboGrove вместо стандартных баз данных, используемых соответствующими программами. Для этого планируется в качестве тестового набора данных использовать общедоступные результаты секвенирования (т. е. прочтения) участков генов 16S рРНК, полученные из сообществ, таксономический состав которых известен.

В. В. Скакун, Ю. А. Коберник-Березовский, Н. Н. Яцков, В. В. Гринев

БАЗА ДАННЫХ ГЕНОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ САЙТОВ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА

*Белорусский государственный университет
Республика Беларусь, 220030, г. Минск, пр. Независимости, д. 4
e-mail: skakun@bsu.by*

Полное секвенирование генома или секвенирование только функционально значимых регионов генома человека позволяет одновременно идентифицировать множество сайтов генетического полиморфизма, имеющих диагностическую или прогностическую значимость в отношении многих заболеваний человека. Стандартным подходом в поиске возможных сайтов полиморфизма является комбинирование доступных on-line/off-line компьютерных программ, каждая из которых позволяет осуществить тот или иной этап по идентификации сайтов генетического полиморфизма. Автоматизация всего процесса анализа отсутствует, параметры методов и моделей задаются вручную. Промежуточные и конечные результаты обработки записываются в виде несистематизированных наборов файлов, а их местоположение документируется отдельно, часто в блокноте или лабораторном журнале. Для восстановления логической информации о выполненном анализе требуется упорядочивание множества взаимосвязанной информации о данных, включая сведения о версиях программ, референсных базах данных, протоколах подготовки потоков данных и т. д. Следовательно, требуется разработка специализированной инфраструктуры для хранения и обработки наборов больших данных геномного секвенирования.

Усилиями нашего коллектива была разработана и введена в строй база данных (БД) геномного секвенирования huGSVdb. Дальнейшей задачей является разработка и программная реализация интерфейса БД, позволяющая производить удаленный доступ к хранящимся данным. Наилучшим решением данной задачи в настоящее время является разработка ВЕБ-интерфейса. Разработав БД и ВЕБ сайт, реализующий интуитивно-понятный графический ВЕБ-интерфейс, мы сразу получаем возможность удаленного и постоянного доступа к интересующим нас данным, параллельно решая проблемы безопасного, целостного и структурированного хранения данных. Целью данной работы является разработка ВЕБ-сайта базы данных геномного секвенирования для идентификации генетического полиморфизма.

Серверная часть ВЕБ сайта (backend) была реализована нами на языке C# с помощью фреймворка компании Microsoft ASP.NET Core 6.0. Интерфейсная часть ВЕБ сайта (frontend) написана на языке JavaScript с использованием библиотеки React. Задача серверной части — принимать запросы от пользователей по доступу к данным, хранящимся в БД, по архитектуре взаимодействия REST, транслировать их, в свою очередь, в запросы к БД и передавать полученные наборы данных обратно. Параллельно решаются задачи авторизованного безопасного доступа к данным и их обработки. Задача интерфейсной части — обеспечить удобный графический интерфейс пользователя для формирования запросов к серверной части и просмотра полученных от нее результатов в виде таблиц, графиков и форматированного текста. Поскольку написанный на языке JavaScript с использованием библиотеки React код выполняется на компьютере клиента в рамках его интернет браузера, то данная технология обеспечивает очень высокую скорость скорее не загрузки, а динамического создания сложных веб страниц.

В настоящее время реализованы основные (главные) страницы ВЕБ ресурса и административная панель, позволяющая редактировать таблицы БД и просматривать данные в них. В дальнейшем планируется проработать наполнение БД и создание «тематических» веб-страниц, представляющих в удобном структурированном виде экспериментальные данные, процедуры их обработки и результаты анализа.

А. А. Шевцова¹, В. А. Большаков¹, А. Ю. Берёзов¹, А. В. Королев²

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ И ПОЛИМОРФИЗМ ПАТОГЕННЫХ ВИРУСОВ ПЧЕЛ В РАЗЛИЧНЫХ РЕГИОНАХ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет
Россия, 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12

e-mail: al.berezov@gmail.com

²ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии
им. К. И. Скрябина»

Россия, 109472, Москва, ул. Академика Скрябина, д. 23

Медоносные пчелы *Apis mellifera* играют важную роль в сельском хозяйстве и сохранении биоразнообразия. Однако бактериальные, паразитарные и вирусные заболевания приводят к резкому сокращению их численности и к нарушению процесса опыления сельскохозяйственных культур и дикорастущих растений. Семь вирусов (ABPV, IAPV, KBV, BQCV, SBV, CBPV и DWV), принадлежащих к порядку Picornavirales, представляют наибольшую угрозу здоровью пчел. Для разработки перспективных методов лечения пчел на основе РНК-интерференции необходимо выяснить, какие вирусы распространены на территории России и выявить в них последовательности консервативных участков РНК.

Цель данного исследования — оценка распространенности и полиморфизма семи патогенных вирусов медоносных пчел *A. mellifera*, циркулирующих в различных регионах Российской Федерации.

В работе были исследованы образцы пчел среднерусской породы с пасек в Сибири, а также метисов карпатской породы в Северо-западном, Центральном и Южном федеральном округах. В общей сложности исследованы 20 пасек, содержащих 204 семьи. Из исследуемых образцов пчел выделяли тотальную РНК с использованием реагента ExtractRNA и проводили реакцию обратной транскрипции с использованием набора MMLV RT kit (ЗАО «Евроген», Москва, Россия). Присутствие вирусов в пробе определялось с помощью ПЦР. Очищенные фрагменты ДНК использовались для секвенирования по Сэнгеру. Множественное выравнивание проводилось с помощью программы Geneious, филогенетические деревья построены в программе Mega X.

Определены четыре самых распространенных вида вирусов для каждой области: ABPV, DWV, SBV, BQCV. В Европейской части России ABPV был обнаружен во всех исследованных семьях. Анализ полиморфизма последовательностей участка гена *RdRp* показал идентичность последовательностей вируса ABPV в российском регионе, присутствие двух типов штаммов BQCV даже в пределах одной области, наличие 2 типов штаммов DWV (тип В, рекомбинантные штаммы), отличающихся друг от друга по 57 позициям. Выявлены SNP в штаммах SBV, которые были распространены только среди российских штаммов. Штаммы IAPV и KBV показали незначительную степень полиморфизма. С помощью филогенетического анализа полученных для штаммов ABPV, SBV установлено европейское происхождение данных вирусов и вероятное распространение из Азии для штаммов BQCV, KBV, IAPV. Всего было выявлено 112 нуклеотидных отличий отечественных штаммов, из которых 8 приводили к заменам аминокислот. Данные замены представляют дальнейший интерес как возможно играющие роль в функциях вирусов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке (грант РФФИ, номер 20-34-90165 Аспиранты, номер ЦИТИС АААА-А20-120100190128-3).

Я. В. Шинкевич, В. В. Гринев

ОБНАРУЖЕНИЕ САЙТОВ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ВАРИАЦИЙ С ПОМОЩЬЮ НЕЙРОННЫХ СЕТЕЙ

*Белорусский государственный университет
Республика Беларусь, 220030, г. Минск, пр. Независимости, д. 4
e-mail: silenoschestra@gmail.ru*

Геном человека содержит множество изменчивых (полиморфных) однонуклеотидных сайтов, варианты которых встречаются в популяциях людей с частотой более 1% и именуются сайтами однонуклеотидных вариаций (SNVs, от англ. single nucleotide variations). На сегодняшний день база данных dbSNP включает информацию о 660773127 полиморфных сайтах генома человека, большая часть из которых представлена SNVs. Получается, с учетом размера нашего генома, что каждый 900–1 000 нуклеотид у разных людей уникален. Это показатель очень высокой изменчивости нашего генома, влияющей на транскрипцию генов, процессинг их первичных РНК и структуру кодируемых белков.

Идентификация полиморфных сайтов по данным полногеномного, экзомного или прицельного секвенирования имеет ряд классических решений, основанных, например, на использовании точного теста Фишера. Однако, исходя из структуры геномных данных, вполне возможно применение и нетривиальных подходов, в частности, нейронных сетей. В связи с этим мы нацелились на проверку потенциала нейронных сетей в обнаружении SNVs.

В нашей работе были использованы эталонные данные, полученные консорциумом GIAB. В частности, мы воспользовались результатами секвенирования генома HG001 (одного из семи геномов GIAB) и списками идентифицированных по результатам секвенирования сайтов SNVs. Эти списки были использованы нами для оценки чувствительности и специфичности наших алгоритмов.

Наши исходные данные, представленные матрицей частот нуклеотидов по каждой из позиций эталонного генома, были разделены на обучающую и тестовую выборку в соотношении 80 к 20, соответственно, и трансформированы согласно специфике подачи данных в нейросеть. Кроме того, так как исходные данные имеют сильный дисбаланс классов (с явным преобладанием сайтов, не являющихся SNVs), то к обучающей выборке был применен upsampling, а в функции ошибки был использован эквивалентный пенализирующий коэффициент weight decay.

Мы использовали нейронные сети по типу многослойного персептрона с двумя скрытыми слоями размерностями 300 и 100, соответственно, между которыми находились слои Batch Normalization. Варьируя значения upsampling и weight decay, нам удалось добиться наилучших результатов по идентификации полиморфных сайтов с upsampling = weight decay = 0,05. При таких значениях указанных параметров идентифицируется 96% известных сайтов с точностью 82%.

Таким образом, результаты нашего исследования показывают, что обучение нейросети по типу многослойного персептрона к проблеме идентификации полиморфных сайтов имеет большой потенциал. В дальнейшем мы планируем улучшить результаты путем редизайна выборок и нейросетевых конфигураций.

Р. С. Шулинский, В. И. Чесалин, В. Л. Крук, А. В. Барышева, Ю. В. Бондаренко

СПОСОБ ИЗМЕРЕНИЯ НЕЕВКЛИДОВЫХ ДЛИН ФРАГМЕНТОВ ГЕНОМНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ

Белорусский государственный университет
Республика Беларусь, 220030, г. Минск, ул. Курчатова, 10
e-mail: shulinski@bsu.by

Современные методы аннотации эукариотических геномов основываются на стандартных методах выравнивания и обучения скрытых марковских моделей. Такие методы в большей степени зависят от представленности данных в базах полногеномного секвенирования исследуемых или близкородственных организмов. В данной работе мы исследуем возможность использования неевклидовых метрик длин фрагментов генома тли *A. craccivora* для проведения аннотации.

Расчеты проводились с использованием интерпретируемого языка программирования python (библиотеки: numba для ускорения вычислений на python, matplotlib для визуализации.)

Для вычисления значения d с использовалась функция `dc_find`. Для оптимизации ее времени выполнения использовался декоратор `@jit`, где `jit` — это функция высшего порядка из библиотеки `numba`, используемая для "just in time"-компиляции функций на python.

Результаты вычислений на примере гена *Dual specificity tyrosine-phosphorylation-regulated kinase 2* класса «Cell growth and death» суперкласса «Cellular Processes». Ген содержит 4 609 букв 4-х буквенного алфавита, область интрона — 2 854, область экзона состоит из двух фрагментов: первый фрагмент экзон¹ — 1 065 букв и второй фрагмент экзон² — 690 букв. В этом примере d_{min} (экзон¹, интрон) = 8, d_{min} (экзон², интрон) = 6 и d_{max} (экзон, интрон) = 10.

Следует особо отметить, что в результате компьютерных вычислений были найдены пересекающиеся множества большого количества фрагментов, содержащихся в экзонной и интронной частях геномной последовательности. Это может быть использовано в дальнейшем для обучения модели нейросети, задачей которой будет определение таких участков, характерных отдельно для экзонной и интронной областей. Такая модель сможет упростить последующую аннотацию геномной последовательности из множества прочтений, полученных путем его секвенирования.

Научное издание

**V Международная научная конференция
«ГЕНЕТИКА И БИОТЕХНОЛОГИЯ XXI ВЕКА:
ПРОБЛЕМЫ, ДОСТИЖЕНИЯ, ПЕРСПЕКТИВЫ»
посвященная 135-летию со дня рождения Н. И. Вавилов**

Материалы
V Международной научной конференции
21–25 ноября 2022 г.

Минск, Республика Беларусь

Главный редактор *А. В. Кильчевский*
Верстка и дизайн *Е. М. Селихова*

Подписано в печать 11.11.2022 . Формат 60×84^{1/8}. Бумага офсетная. Гарнитура Times.
Печать цифровая. Усл. печ. л. 20,81. Уч.-изд. л 15,95. Тираж 150 экз. Заказ № 2665.

Оригинал-макет подготовлен ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/51 от 08.10.2013 г.
220072, г. Минск, ул. Академическая, 27

Отпечатано в УП «Интегралполиграф»
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя
и распространителя печатных изданий № 2/15 от 21.11.2013
ул. Корженевского, д. 16, к. 101, 220108, г. Минск