

зерен равен 28-32 г. В среднем содержание протеина в зерне составляет 17-19% (в отдельные годы 20-21%), клейковины 40-48%, т.е. выше, чем в обычных сортах мягкой озимой пшеницы.

В результате исследований было установлено, что новый сорт синтетической культуры трититригии – Памяти Любимовой формирует стабильные урожаи качественного зерна, а также обладают высокой способностью к послеукольному отрастанию и может давать до трёх укусов зелёной массы.

Библиографический список

1. Завгородний С.В. Морфобиологические и хозяйственно ценные особенности образцов из современной коллекции трититригии (×*Trititrigia cziczinii* Tzvel.) ГБС РАН / Иванова Л.П., Аленичева А.Д., Щуклина О.А., Квитко В.Е., Клименкова И.Н., Соловьёв А.А., Упелниек В.П. // Овощи России. 2022. № 2. С. 10-14.

2. Абделаал, Х.К. Урожайность зерна и зелёной массы нового сорта яровой тритикале Тимирязевская в зависимости от применения разных доз азотных удобрений в условиях ЦРНЗ / Х.К. Абделаал, Е.С. Энзекрей, А.А. Соловьёв и др. // Кормопроизводство. — 2019. — № 2. — С. 18–22.

3. Иванова Л.П. Сравнительная оценка образцов октоплоидной многоукошной кормовой культуры ×*Trititrigia cziczinii* Tsvelev в контрольном питомнике / Кузнецова Н.Л., Ермоленко О.И., Клименкова И.Н., Аленичева А.Д., Клименков Ф.И., Упелниек В.П. // Аграрная Россия. 2021. № 4. С. 10-14.

4. Иванова Л.П. Перспективы использования новой сельскохозяйственной культуры трититригии (×*Trititrigia cziczinii* Tsvelev) в кормопроизводстве / Щуклина О.А., Ворончихина И.Н., Ворончихин В.В., Завгородний С.В., Энзекрей Е.С., Комкова А.Д., Упелниек В.П. // Кормопроизводство. 2020. № 10. С. 13-16.4.

Грабовец, А.И. Селекция озимых зерновых тритикале на Дону / А.И. Грабовец, А.В. Крохмаль // Тритикале России. — Ростов-на-Дону, 2000. — С.12–18.

5. Цвелёв, Н.Н. Краткий конспект злаков (Poaceae) Восточной Европы: начало системы (трибы Bambuseae – Bromeae) / Н.Н. Цвелёв // Новости систематики высших растений. — 2006. — Т. 38. — С. 66–113.

6. Цицин, Н.В. Многолетняя пшеница / Н.В. Цицин. — М.: Наука, 1978. — 287 с.

7. Доспехов, Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований) / Б.А. Доспехов. — М., 1985. — 352 с.

УДК 631:577.21

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ПАСПОРТИЗАЦИЯ СОРТОВ СОИ СЕЛЕКЦИИ ФНЦ ВНИИ СОИ

Бондаренко Ольга Николаевна, младший научный сотрудник лаборатории биотехнологии ФГБНУ ФНЦ ВНИИ сои, ton@vniisoi.ru

Аннотация: С использованием SSR-маркеров, исследовали 9 сортов сои селекции ФГБНУ ФНЦ ВНИИ сои. Для всех проанализированных сортов получены уникальные микросателлитные профили. Полученные результаты позволили разработать молекулярно-генетический паспорт культуры на основе SSR-маркеров.

Ключевые слова: соя, микросателлитные маркеры, молекулярно-генетическая паспортизация

На сегодняшний день проведение генетической паспортизации считается актуальной задачей современной селекции. Термин «генетический паспорт» широко используется в отношении человека, животных, растений, микроорганизмов как в актах федерального законодательства и юридической литературе, так и в научной литературе [1, 2, 3], несмотря на разные формулировки, в целом означает документ, отражающий отличительные генетические особенности сорта/породы/штамма (если речь идет о животных, растениях, микроорганизмах соответственно), и позволяет отличить его от остальных сортов/пород/штаммов соответствующего вида [4].

Генетический паспорт как документ, отражающий отличительные генетические особенности сорта или гибрида, формируется на основе результатов оценки по генетическим маркерам. В настоящее время, микросателлитные ДНК-маркеры являются наиболее распространенным типом ДНК-маркерных систем, используемых при работе с генетическими ресурсами растений – идентификации и ДНК-паспортизации образцов. Для паспортизации сортов сои нами были выбраны SSR-праймеры, предложенные ранее авторами из ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК в качестве маркерной системы для идентификации и паспортизации сортов культурной сои [5, 6].

На основе многолетней мировой практики, касающейся семенного контроля, из трех типов генетических маркеров (морфологические, белковые и ДНК-маркеры) в качестве обязательных остаются только морфологические генетические маркеры, тогда как ДНК-маркеры до недавнего времени носило рекомендательный характер [4]. В конце 2021 года президент России подписал новый закон «О семеноводстве». (Федеральный закон от 30.12.2021 N 454-ФЗ «О семеноводстве») [7]. Закон вступает в силу с 1 сентября 2023 года, за исключением норм о генетическом паспорте – они вступают в силу с 1 сентября 2024 года. Предусмотрено создание Государственного реестра сортов и гибридов сельскохозяйственных растений, допущенных к использованию (Госреестр). Каждый сорт и гибрид, который будет в него включен, обретет генетический паспорт. Это документ, созданный на основе молекулярно-генетического анализа семян.

ДНК-паспорт полностью исключает кражу права на селекционное достижение или необоснованное присвоение приоритета. Внедрение ДНК-паспортов поможет определить, насколько новый сорт является действительно оригинальным, а не состоящим почти полностью из генов уже известного сорта другого оригинатора. Когда ДНК-паспортизация станет повсеместной,

сохранение и пополнение картотеки генов ускорит развитие отечественной селекции. Наличие такой базы данных по каждому сорту позволит производить скрещивания значительно более целенаправленно.

Целью данных исследований являлось создание молекулярно-генетических паспортов сортов сои селекции ФГБНУ ФНЦ ВНИИ сои на основании полиморфизма микросателлитных локусов.

Объектом исследования служили 9 сортов селекции ФНЦ ВНИИ сои – Кружевница, Сентябринка, Веретейка, Лидия, Умка, Даурия, Золушка, Лазурная, Топаз (семенной материал полевого севооборота 2020 г. лаборатории селекции и генетики сои ФНЦ ВНИИ сои в с. Садовое, Тамбовского района). Использовали 7-дневные проростки, полученные согласно ГОСТ 12044-93 в рулонах фильтровальной бумаги. Методика выделения и очистки ДНК была проведена с использованием набора реагентов для выделения геномной ДНК из растений (ООО Синтол, Россия), согласно прилагаемой инструкции. Концентрацию ДНК определяли при помощи набора реагентов для измерения концентрации двухцепочечной ДНК на флюориметре MAXLIFE согласно инструкции к набору (ООО «МВМ-Диагностик», Россия). Концентрацию выделенной ДНК разбавляли до 100 нг/мкл. Для амплификации выделенной ДНК применяли 6 пар SSR-праймеров (таблица 1), в концентрации 100 пкмоль/мкл. ПЦР проведена в 3-х кратной повторности.

Таблица 1

Характеристика исследуемых микросателлитных локусов

Наименование локуса	Повтор	Последовательность фланкирующих праймеров (5'-3')	Температура отжига (°C)
1	2	3	4
<i>Satt1</i>	(ATT) ₂₄	f-AGTACATAGATATTAAGTCT r-AAATGATGAACGTGAATTATT;	60
<i>Satt2</i>	(AAT) ₁₈	f-ATAATGTGGAAACTAAATGG r-TAATGTGCCTATCCTTGTCTT	60
<i>Satt5</i>	(TAA) ₂₁	f-TATCCTAGAGAAGAATAAAAA r-GTCGATTAGGCTTGAAATA	55
<i>Satt9</i>	(AAT) ₁₂	f-ATTA CTAGAGAAATTAGTTA r-CTTACTAGGGTATTAACCCTT	45
<i>Soypr1</i>	(TAT) ₂₀	f-CGAAGAGCTACGTGCCAAATT r-GTTAGAAAAC TCCGCCACAC	60
<i>Soyhsp176</i>	(AT) ₁₅	f-TGTGGGCCACAACGTATAG r-CGTACGTTCTAGCTAGTCTTC	60

Амплификацию выделенных фрагментов ДНК сои проводили с помощью амплификатора CFX96 (Real-time) (Bio-Rad laboratories Inc., США). ПЦР осуществляли в объеме реакционной смеси 25 мкл, которая включала в себя: 12,5 мкл готовой реакционной смеси БиоМастер HS-Taq ПЦР-Color (2×) (ООО «Биолабмикс», Россия); 1 мкл образца выделенной ДНК; по 1 мкл прямого и обратного праймеров; 9,5 мкл стерильной воды. Продукты реакции были разделены методом электрофореза в 2 %-м агарозном геле с использованием камеры для горизонтального электрофореза SE-1 (ООО Компания Хеликон,

Россия). Визуализация осуществлена путем облучения геля ультрафиолетом в гель-документирующей системе GelDoc EZ (Bio-Rad laboratories Inc., США). Идентификацию и определение размеров аллелей микросателлитных локусов проводили с использованием программы Image Lab Version 6.0.1 4 Standard Edition.

С использованием SSR-маркеров исследовали 9 сортов сои селекции ФГБНУ ФНЦ ВНИИ сои. В результате амплификации получили межсортовые полиморфные картины распределения фрагментов ДНК по всем локусам. При выборе SSR-маркеров для паспортизации сортов сои учитывался индекс полиморфного информационного содержания PIC каждого из них, частота встречаемости аллелей среди сортов. Выбранный набор маркеров позволил идентифицировать изучаемые сорта сои селекции ФГБНУ ФНЦ ВНИИ сои. В итоге для каждого сорта на основании выявленного набора аллелей микросателлитных локусов были составлены молекулярно-генетические паспорта или так называемые «генетические формулы генотипов». Большими буквами латинского алфавита был обозначен код локуса, а нижний индекс – аллельное состояние данного локуса. Для всех проанализированных сортов получены уникальные микросателлитные профили (таблица 2).

Таблица 2

Формулы образцов дикой и сортов культурной сои амурской селекции

Сорт	Формула*
Кружевница	A ₁₃₅ B _{120/176} C ₁₇₀ D _{156/200} E ₁₉₀ F ₁₀₀
Сентябрянка	A ₁₃₅ B ₁₇₆ C ₁₅₀ D ₂₀₀ E ₁₉₀ F ₁₀₀
Веретейка	A ₁₃₅ B _{176/100} C _{170/150} D ₂₀₀ E ₁₉₀ F ₁₀₀
Лидия	A ₁₃₅ B _{176/100} C ₁₇₀ D ₁₇₀ E ₁₉₀ F ₁₀₀
Умка	A ₁₃₅ B ₁₄₅ C ₁₅₀ D ₁₅₆ E ₁₉₀ F ₁₀₀
Даурия	A ₁₄₅ B _{145/100} C _{150/125} D ₁₅₆ E ₁₉₀ F ₁₀₀
Золушка	A ₁₅₆ B _{145/100} C ₁₂₅ D ₂₀₀ E ₁₉₀ F ₁₀₀
Лазурная	A ₁₅₆ B ₁₄₅ C ₁₂₅ D ₁₅₆ E ₁₉₀ F ₁₀₀
Топаз	A ₁₅₆ B _{145/100} C ₁₂₅ D ₁₅₆ E ₁₉₀ F ₁₀₀

*Примечание: код локуса A-Satt1; B-Satt2; C-Satt5; D-Satt9; E- Soypr1; F- Soyhsp176.

Лаборатория биотехнологии организована в ФГБНУ ФНЦ ВНИИ сои в 2018 г. Основными ее задачами на сегодняшний день являются исследование молекулярно-генетического полиморфизма микросателлитов ДНК дикой и культурной сои и усовершенствование системы маркеров для идентификации и паспортизации их генотипов. Полученные результаты позволили разработать молекулярно-генетический паспорт культуры на основе SSR-маркеров (рис. 1). Помимо индивидуальных микросателлитных формул и ДНК-профилей, в него дополнительно включены основные характеристики и описание сорта, рекомендации по возделыванию. Сличение анализируемого образца с эталонным ДНК-паспортом в будущем даст возможность решать такие задачи, как генетическая идентификация, контроль сортовой чистоты и сортового соответствия семенного материала.

Молекулярно-генетический паспорт №0009



Культура: Соя (*Glycine max* (L.) Merr.)

Сорт сои: Золушка

Оригинатор: ФГБНУ ФНЦ ВНИИ сои

Включен в Госреестр селекционных достижений РФ в 2019 г.

ПАТЕНТ № 10251 от 26.04.2019 г

- Среднеспелый, высокопродуктивный
- Комплексно устойчив к грибным и бактериальным болезням сои
- Устойчив к пониженным положительным температурам в период прорастания и полеганию
- Обеспечивает стабильную продуктивность независимо от способа возделывания



Период вегетации, дни	112-115
Норма высева, тыс. всхожих семян/га	400-500
Урожайность, ц/га	33
Содержание масла, %	19
Содержание белка, %	39
Масса 1000 семян, г	151-177
Высота растения, см	67-70
Высота прикрепления нижнего боба, см	11-17

ОПИСАНИЕ СОРТА

тип роста растения - полудетерминантный
куст - прямостоячий (компактный), количество ветвей - 1 длинная, короткие междуузлия, надлома нет
лист - 3-листочковый, узкий, ланцетовидный
цветок - фиолетовый, соцветие - кисть, в средней части стебля 2 цв. кисти на ножке, число цветков на цветоносе - 13-15, в верхушечной части - 16
семена - жёлтые, шаровидно-приплюснутые, слабоблестящие, гладкие с коротким, овальным рубчиком жёлтого цвета
бобы - серой окраски, слабоизогнутые, почти прямой формы, 3-семянные (57,4%), 4-семянные (8,3%), опушение стеблей и бобов - серое, средней плотности, не растрескиваются

РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ВОЗДЕЛЫВАНИЮ

Рекомендуется возделывать в южных и центральных почвенно-климатических зонах Дальнего Востока. Срок посева - с 6 по 20 мая, глубина заделки семян - 5 см. Содержание P2O5 в почве - не менее 40 мг/кг почвы. Обработка семян - микробиологическим удобрением, раствором молибдата аммония, биопрепаратами, во влажные годы - фунгицидами.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ФОРМУЛА

A₁₅₆B_{145/100}C₁₂₅D₂₀₀E₁₉₀F₁₀₀

где код локуса A-Satt1; B-Satt2; C-Satt5; D-Satt9; E-Soypr1; F- Soyhsp176

ДНК-профиль сорта по результатам электрофореза (схема):



ДНК-идентификационные SSR-маркеры:

SATT1 f-AGTACATAGATATTTAAAGTCT;r-AAATGATGAACGTGAATTATT;
SATT2 f-ATAATGTGGAAACTAAATGG;r-TAATGTGCCTATCCTTGTCTT;
SATT5 f-TATCCTAGAGAAGAATAAAAA;r-GTCGATTAGGCTTGAATA;
SATT9 f-ATTACTAGAGAAATTAGTTTA;r-CTTACTAGGGTATTAACCCCTT;
SOYPR1 f-CGAAGAGCTACGTGCCAAATT;r-GTTAGAAAACCTCCGCCACAC;
SOYHSP176 f-TGTGGGCCACAAAACGTATAG;r-CGTACGTTCTAGCTAGTCTTC.

сорт сои
Золушка

г. Благовещенск,
Игнатьевской шоссе, д. 19,
Амурская область, 675028
Тел. (4162) 36-94-50,
8914-558-34-34
E-mail: info@vniisoi.ru

Рисунок. Эталонный молекулярно-генетический паспорт сорта сои Золушка (*Glycine max* (L.) Merr.)

Библиографический список

1. Лыжин, А. С. Создание генетических паспортов подвойных форм яблони на основе анализа полиморфизма микросателлитных последовательностей ДНК / А. С. Лыжин // Достижения науки и техники АПК. – 2019. – Т. 33. – № 2. – С. 11-13. – DOI 10.24411/0235-2451-2019-10203.
2. Тужилова-Орданская, Е. М. Проблемы гражданско-правового регулирования в сфере защиты прав гражданина в Российской Федерации при использовании генетической информации / Е. М. Тужилова-Орданская, Е. В. Ахтямова // Вестник Пермского университета. Юридические науки. – 2021. – № 52. – С. 263-284. – DOI 10.17072/1995-4190-2021-52-263-284.
3. Номенклатурные стандарты и генетические паспорта сортов яблони селекции Крымской опытно-селекционной станции ВИР / Л. В. Багмет, И. С. Чепинога, А. А. Трифонова [и др.] // Садоводство и виноградарство. – 2021. – № 6. – С. 5-16. – DOI 10.31676/0235-2591-2021-6-5-16.
4. Хлесткина, Е. К. Генетические ресурсы России: от коллекций к биоресурсным центрам / Е. К. Хлесткина // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 2022. – Т. 183. – № 1. – С. 9-30. – DOI 10.30901/2227-8834-2022-1-9-30.
5. Рамазанова С.А. Идентификация сортов сои (*Glycine max* L.) с использованием микросателлитных локусов ДНК // Масличные культуры. Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – 2016. – Вып. 2 (166). – С. 63–67.
6. Рамазанова С.А., Коломыцева А.С. Оптимизация технологии генотипирования сои на основе анализа полиморфизма SSR-локусов ДНК // Масличные культуры. – 2020. – №1 (181). – С. 42–48.
7. О семеноводстве: Федеральный закон от 30.12.2021 № 454-ФЗ: [принят Государственной думой 22 декабря 2021 года: одобрен Советом Федерации 24 декабря 2021 года]. Москва; 2021). URL:<http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202112300119> [дата обращения: 24.05.2022].

УДК 577.29

МОЛЕКУЛЯРНОЕ КЛОНИРОВАНИЕ, ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ЭКСПРЕССИЯ ИНДУЦИРУЕМОГО ЗАСУХОЙ ГЕНА ФЕНИЛАЛАНИН-АММИАК-ЛИАЗЫ ИЗ *OSIMUM BASILICUM* L. (ОбPAL)

Бедарев Владислав Алексеевич, аспирант кафедры биотехнологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, vladislav290@yandex.ru

Поливанова Оксана Борисовна, доцент кафедры биотехнологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, polivanova@rgau-msha.ru

Аннотация: Фенилаланин-аммиак-лиаза (*Phenylalanine ammonia-lyase* (PAL)) – точка отсчета для фенилпропаноидных и терпеноидных метаболических путей. Для лучшего понимания их биосинтеза проведено