

ISSN 1561-8323 (Print)  
ISSN 2524-2431 (Online)

**БИОЛОГИЯ**  
**BIOLOGY**

УДК 577.21:631.527:633.367  
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2020-64-1-63-70>

Поступило в редакцию 18.09.2019  
Received 18.09.2019

**Е. Н. Сысолятин<sup>1</sup>, В. С. Анохина<sup>2</sup>, Н. В. Анисимова<sup>1</sup>, О. Г. Бабак<sup>1</sup>,  
академик А. В. Кильчевский<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь  
<sup>2</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

**ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ УЗКОЛИСТНОГО И ЖЕЛТОГО  
ЛЮПИНОВ ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ ИЗОЛЯТАМИ *FUSARIUM***

**Аннотация.** Методом SRAP-анализа кДНК изучена дифференциальная экспрессия генов у проростков узколистного и желтого люпинов, обработанных различными изолятами *Fusarium*. В результате выявлены ПЦР-фрагменты, присутствие которых в профилях коррелирует с невосприимчивостью проростков к патогену. Соответствующие им генетические детерминанты, вероятно, участвуют в обеспечении устойчивости (толерантности) растений люпина к фузариозу.

**Ключевые слова:** люпин узколистный, люпин желтый, кДНК, SRAP-типирование

**Для цитирования:** Дифференциальная экспрессия генов узколистного и желтого люпинов при инфицировании изолятами *Fusarium* / Е. Н. Сысолятин [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2020. – Т. 64, № 1. – С. 63–70. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2020-64-1-63-70>

**Eugeny N. Sysoliatin<sup>1</sup>, Vera S. Anokhina<sup>2</sup>, Natalia V. Anisimova<sup>1</sup>, Olga G. Babak<sup>1</sup>,  
Academician Alexander V. Kilchevsky<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus,  
<sup>2</sup>Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

**DIFFERENTIAL GENE EXPRESSION IN *FUSARIUM*-TREATED SEEDLINGS OF NARROW-LEAVED AND  
YELLOW LUPINE**

**Abstract.** In order to assess the differential expression of genes, seedlings of narrow-leaved and yellow lupine treated with different *Fusarium* isolates were studied by the method of SRAP-analysis. As a result, PCR fragments correlated with tolerance to infection were found. The corresponding genetic determinants are likely involved in the resistance (tolerance) control of lupine plants to *Fusarium*.

**Keywords:** narrow-leaved lupin, yellow lupin, cDNA, SRAP genotyping

**For citation:** Sysoliatin E. N., Anokhina V. S., Anisimova N. V., Babak O. G., Kilchevsky A. V. Differential gene expression in *Fusarium*-treated seedlings of narrow-leaved and yellow lupine. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2020, vol. 64, no. 1, pp. 63–70 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2020-64-1-63-70>

**Введение.** Люпины узколистный и желтый являются ценным источником растительного белка для кормопроизводства и представляют значимую альтернативу сое в европейских странах. В соответствии с действующей в Беларуси программой обеспечения животноводческой отрасли сельского хозяйства собственным растительным белком посевные площади под зернобобовыми культурами в последние годы растут (170 % к уровню 2018 г.). Однако расширение посевов люпина осложняется существующей угрозой потерь урожая вследствие инфекционных болезней. Серьезный экономический ущерб возделыванию люпина наносят грибные инфекции,

среди которых одна из наиболее вредоносных – фузариоз [1; 2]. Фузариозное поражение у люпинов проявляется на вегетативной стадии, вызывая увядание листьев вплоть до полной дефолиации, гниение тканей корня, что в конечном итоге приводит к гибели пораженных растений и значительным экономическим потерям.

Возбудителем фузариоза у люпина являются патогенные грибы рода *Fusarium*. Доминирующие патогены – *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc. для люпина узколистного, *Fusarium oxysporum* Snyd. & Hans., поражающий преимущественно люпины желтый и белый, встречаются *F. solani*, *F. acuminatum*, *F. culmorum* [3; 4]. Представители *Fusarium* spp. обитают и на других видах растений-хозяев, что обеспечивает широкое распространение инфекции не только в нашем агроклиматическом регионе, странах Восточной Европы, но и в Австралии, Египте, Южной Африке, Канаде, где они также являются естественными обитателями природных биоценозов.

*Fusarium* spp. имеет высокий потенциал распространения. Хламидоспоры и конидии гриба переносятся водой на короткие расстояния к окружающим растениям и прилегающим участкам. Возбудитель может распространяться в новые отдаленные районы на зараженных семенах и загрязненном оборудовании, в воздушных потоках с инфицированными остатками растений. Хламидоспоры *Fusarium* spp. сохраняют жизнеспособность в почве в течение длительных периодов в отсутствие восприимчивого хозяина [3; 5–8].

Ситуация осложняется тем, что хоть и существует некоторая вариабельность устойчивости к патогену, большинство возделываемых сортов люпинов узколистного и желтого чувствительны к фузариозному поражению, что является серьезной проблемой и препятствует расширению посевных площадей. Пока не удалось идентифицировать конкретные нуклеотидные последовательности генов, детерминирующих устойчивость к фузариозу. Для некоторых растений (*Solanum lycopersicum*, *Arabidopsis thaliana*) известны механизмы защиты от данного патогена [9; 10]. В отношении люпина природа генетических механизмов, определяющих устойчивость отдельных сортов и образцов, в значительной степени остается неизученной. Понимание молекулярно-генетических механизмов формирования защитного ответа против этого заболевания у люпина и выявление соответствующих генетических факторов позволит повысить эффективность селекционной работы по созданию устойчивых сортов.

Целью данной работы является выявление генетических детерминант устойчивости к фузариозу у люпинов узколистного и желтого путем оценки дифференциальной экспрессии генов методом SRAP-анализа кДНК.

**Материалы и методы исследования.** Материалом для исследования является комплементарная ДНК (кДНК) проростков люпинов узколистного и желтого, полученных из семян, подвергнутых обработке суспензией спор изолятов *Fusarium* в рамках эксперимента по оценке устойчивости к фузариозу. РНК выделяли из корешков 10-дневных проростков люпина, полученных с использованием рулонного метода.

В случае с узколистным люпином эксперимент включал 3 группы проростков сортов Ашчадны, Yorgel, Frost, Немчиновский 846: интактные (контрольный вариант), обработанные двумя изолятами *Fusarium oxysporum* L. (изоляты 219-1, 219-2). В случае с желтым люпином эксперимент включал 4 группы проростков сортов Tremosilla, БСХА13, БСХА19, Надежный: интактные (контрольный вариант), обработанные тремя изолятами *Fusarium* L. (изоляты *F. oxysporum* 37, *F. solani* 315 и *F. oxysporum* 333-2). В обоих экспериментах для каждого сорта корешки отбирали в трех повторностях.

Для анализа образцов был выбран метод SRAP-анализа (Sequence-Related Amplified Polymorphism), основанный на амплификации открытых рамок считывания и позволяющий проводить типирование пула кДНК [11].

кДНК синтезировали на матрице РНК с использованием обратной транскриптазы и поли-Т праймера. Таким образом, в результирующем пуле кДНК преобладали последовательности мРНК, обладающие поли-А хвостом.

На матрице полученного пула кДНК проводили серию ПЦР с комбинациями из 3 прямых (Me8, f12, f16) и 4 обратных (Em5, Em12, r14, r9) SRAP-праймеров (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Список SRAP-праймеров, использованных в работе

T a b l e 1. List of SRAP primers used in the work

Праймер Primer	Последовательность 5'-3' Sequence 5'-3'	Ссылка Reference
Me8	TGAGTCCAAACCGGACT	[12]
F12	CGAATCTTAGCCGGAGC	[13]
F16	GATCCAGTTACCGGCAC	[13]
Em12	GACTGCGTACGAATTCTC	[12]
Em5	GACTGCGTACGAATTAAC	[12]
r9	GACACCGTACGAATTTGA	[13]
r14	CGCACGTCCGTAATTAAC	[13]

SRAP-ПЦР проводили в реакционной смеси объемом 15 мкл, содержащей следующие компоненты: 1 ед. Taq-полимеразы (ArtTaq, АртБиоТех), 1х ПЦР-буфер, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 200 мкМ каждого dNTP, 500 пмоль/мкл прямого и обратного праймера, 0,5 мкл препарата кДНК. Амплификацию начинали плавлением ДНК при 94 °С в течение 5 мин, затем проводили 5 циклов: 94 °С – 1 мин, 35 °С – 1 мин, 72 °С – 1 мин; а затем 35 циклов: 94 °С – 1 мин, 50 °С – 1 мин, 72 °С – 1 мин; заключительную элонгацию осуществляли при 72 °С 5 мин.

Полученные профили фрагментов разделяли в 2 %-ном агарозном геле и окрашивали бромистым этидиумом.

На основании результатов реакций SRAP-ПЦР были составлены бинарные матрицы, где 0 обозначал отсутствие бэнда (фрагмента), а 1 – наличие. При составлении матриц учитывали только фрагменты длиной 100 п. н. и более. Полученная бинарная матрица была использована при поиске корреляций между составом SRAP-профилей и размером вегетативных органов проростков (корешок и гипокотиль). Для оценки величины и достоверности корреляции использовали коэффициент Спирмена.

ПЦР-фрагменты, ассоциированные с устойчивостью, были выделены и секвенированы с помощью набора BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific Inc.). Их предполагаемая функция назначена на основе поиска по базам данных Nucleotide BLAST и поиска консервативных доменов ([14], база данных CDD).

**Результаты и их обсуждение.** В результате SRAP-анализа кДНК узколистного люпина было получено 408 (34 образца, 12 комбинаций праймеров) электрофоретических профилей. Для желтого люпина получено 576 (48 образцов, 12 комбинаций праймеров) электрофоретических профилей. В обоих случаях на профилях выявлены полиморфные фрагменты. Общая характеристика фрагментов, обнаруживаемых при SRAP-анализе, представлена в табл. 2.

Т а б л и ц а 2. Показатели эффективности генотипирования кДНК люпинов узколистного и желтого с помощью SRAP-ПЦР

T a b l e 2. Genotyping performance indicators of cDNA with the use of SPAR-PCR

Пара праймеров Primer pair	Количество фрагментов Number of fragments		Диапазон длин фрагментов, п. н. The range of lengths of fragments, n. p.		Количество полиморфных фрагментов The number of polymorphic fragments	
	1*	2	1	2	1	2
Me8/Em12	17	3	220–3000	220–600	16	3
Me8/Em5	18	6	150–2000	260–1200	18	6
Me8/r9	25	7	155–5000	900–2500	25	7
Me8/r14	13	4	110–3000	400–2000	13	4
F12/Em12	9	3	120–1500	120–2500	7	3
F12/Em5	18	7	120–2000	120–800	17	6
F12/r9	22	12	100–3000	150–850	19	12
F12/r14	27	9	150–3000	110–580	27	8
F16/Em12	28	15	100–5000	200–2500	27	14
F16/Em5	25	12	110–5000	110–850	24	10
F16/r9	9	16	150–900	150–1200	6	13
F16/r14	23	13	110–3000	150–850	23	13

Примечание. \* – 1 – *L. angustifolius*, 2 – *L. luteus*.

Note. \* – 1 – *L. angustifolius*, 2 – *L. luteus*.

Из полученных данных видно, что SRAP-профили кДНК узколистного люпина характеризовались более широким разнообразием фрагментов.

Поскольку длина корня и гипокотыля являются показателями, по которым судят о реакции проростков на фитопатоген, установление связи между наличием фрагмента на SRAP-профиле и биометрическими параметрами проростков свидетельствует о роли подобных фрагментов в обеспечении устойчивости к фузариозу. Связь между ПЦР-фрагментами и размерами вегетативных органов проростков искали, рассчитывая величину и достоверность коэффициента корреляции Спирмана для контрольной группы проростков и для групп, обработанных культурами фузариума.

В опыте с проростками люпина узколистного установлено, что восприимчивые (показывающие угнетение роста) проростки в группах, обработанных изолятами фузариума, характеризовались образованием на SRAP-профилях фрагментов f12-r9-480 и f12-r14-250. Устойчивые проростки характеризовались наличием фрагментов f12-r14-290 и f16-Em12-1100 (табл. 3).

Т а б л и ц а 3. Корреляции между составом SRAP-профилей и показателями проростков люпина узколистного

Table 3. Correlation between the composition of SRAP profiles and the indicators of narrow-leaved lupine seedlings

SRAP-RGA праймеры SRAP-RGA primers	Длина фрагмента Fragment length	Показатель проростков Seedling rate			
		Длина корня Root length		Длина гипокотыля Hypocotyl length	
		коэффициент корреляции Спирмана, $\rho$ Spearman correlation coefficient, $\rho$	уровень значимости, $p$ significance level, $p$	коэффициент корреляции Спирмана, $\rho$ Spearman correlation coefficient, $\rho$	уровень значимости, $p$ significance level, $p$
<i>Контрольная группа проростков Control group of seedlings</i>					
f12-Em5	800	<b>-0,63*</b>	<b>0,04</b>	<b>-0,68*</b>	<b>0,02</b>
f12-r14	290	0,56	0,07	<b>-0,61*</b>	<b>0,04</b>
f16-Em12	1100	-0,54	0,09	<b>-0,74*</b>	<b>0,009</b>
<i>Проростки, обработанные суспензией спор фузариума Seedlings treated with a suspension of spores of Fusarium</i>					
f12-r9	480	<b>-0,63*</b>	<b>0,002</b>	-0,41	0,06
f12-r14	290	<b>0,66*</b>	<b>0,001</b>	<b>0,50*</b>	<b>0,02</b>
	250	-0,36	0,11	<b>-0,61*</b>	<b>0,003</b>
f16-Em12	1100	0,33	0,14	<b>0,43*</b>	<b>0,05</b>

Пр и м е ч а н и е. \* – жирным шрифтом выделены статистически достоверные значения ( $p > 0,05$ ). В таблице приведены только фрагменты, показавшие достоверные значения корреляции хотя бы с одним показателем проростков.

Note. \* – the bold type shows the statistically significant values ( $p > 0.05$ ). Table contains only the fragments illustrating the significant values of the correlation at least with one seedling indicator.

Были выявлены близкие к обратным значения коэффициента корреляции Спирмана между длиной гипокотыля и наличием фрагментов f12-r14-290 (-0,68 и 0,50) и f16-Em12-1100 (-0,74 и 0,43) в условиях отсутствия и наличия инфекции фузариума соответственно. Следовательно, под воздействием патогена индуцируется экспрессия данных генетических детерминант, которые, очевидно, участвуют в формировании защитной реакции организма.

Секвенирование фрагмента f12-r14-290 и последующий поиск в BLAST показали высокую степень сходства с гипотетическими транскриптами узколистного люпина XM\_019594789.1 и XM\_019594788.1. Поиск консервативных доменов в последовательностях этих транскриптов показал наличие домена SNARE, характерного для синтаксин-связывающих белков (STBP), участвующих в процессах экзоцитоза и вовлеченных в механизмы неспецифической устойчивости растений к патогенам [15].

Выявленный нами транскрипт с доменом SNARE (f12-r14-290) может оказаться одной из детерминант неспецифической устойчивости люпина узколистного, поскольку бэнды на SRAP-профилях, говорящие об его экспрессии, обнаруживались у проростков с более развитыми корнями при обработке различными изолятами *Fusarium*.

Секвенирование фрагмента f12-r14-250, наличие которого характерно для угнетенных проростков, показало сходство с участком хромосомы узколистного люпина CP023123.1. Покрытие составило 98 %, идентичность – 98 %, E-value – 5e-91. Кроме того, часть полученного сиквенса оказалась гомологична последовательности реморин-подобной РНК ХМ\_019603771.1. Присутствие указанной РНК может свидетельствовать об активном синтезе белков реморинов, связанных с растительно-микробными взаимодействиями [16].

SRAP-анализ кДНК люпина желтого показал, что проростки контрольной группы (без инокуляции грибами), образующие ПЦР-фрагменты f19-r9-450, характеризовались большей длиной корней, а проростки, образующие фрагмент f16-em5-600, – большей длиной гипокотыля. Наличие фрагментов f12-Em5-500, f12-Em5-150, f12-Em12-2000 у интактных образцов коррелировало с более короткими корешками (табл. 4).

Т а б л и ц а 4. Корреляции между составом SRAP-профилей и показателями проростков желтого люпина, обработанных культурами возбудителя фузариоза

T a b l e 4. Correlation between the composition of SRAP profiles and the indicators of yellow lupine seedlings treated with pathogen *Fusarium* cultures

SRAP-RGA праймеры SRAP-RGA primers	Длина фрагмента Fragment length	Показатель проростков Seedling rate			
		Длина корня Root length		Длина гипокотыля Hypocotyl length	
		коэффициент корреляции Спирмана, ρ Spearman correlation coefficient, ρ	уровень значимости, p significance level, p	коэффициент корреляции Спирмана, ρ Spearman correlation coefficient, ρ	уровень значимости, p significance level, p
<i>Контрольная группа проростков Control group of seedlings</i>					
f12-Em5	500	0,14	0,66	<b>-0,59*</b>	<b>0,05</b>
	150	0,25	0,43	<b>-0,7</b>	<b>0,01</b>
f12-Em12	2000	-0,07	0,84	<b>-0,58</b>	<b>0,05</b>
f16-Em5	600	0,02	0,94	<b>0,71</b>	<b>0,01</b>
f16-r9	450	<b>0,65</b>	<b>0,02</b>	-0,26	0,42
<i>Проростки, обработанные изолятами Fusarium Fusarium Seedlings</i>					
Me8-Em5	1100	-0,1	0,57	<b>-0,33</b>	<b>0,05</b>
f12-Em5	120	<b>0,51</b>	<b>0,001</b>	-0,06	0,74
	200	0,24	0,16	<b>0,41</b>	<b>0,01</b>
f12-r14	320	<b>-0,34</b>	<b>0,04</b>	-0,12	0,47
f12-r9	500	-0,28	0,1	<b>-0,33</b>	<b>0,05</b>
f16-r9	500	<b>0,39</b>	<b>0,02</b>	-0,07	0,69
	320	0,04	0,8	<b>-0,34</b>	<b>0,04</b>
	280	<b>-0,36</b>	<b>0,03</b>	-0,33	0,051

Пр и м е ч а н и е. \* – жирным шрифтом выделены статистически достоверные значения ( $p > 0,05$ ). В таблице приведены только фрагменты, показавшие достоверные значения корреляции хотя бы с одним показателем проростков.

N o t e. \* – the bold type shows the statistically significant values ( $p > 0.05$ ). Table contains only the fragments illustrating the significant values of the correlation at least with one seedling indicator.

В группе проростков, обработанных культурой возбудителя фузариоза, были выявлены положительные корреляции между наличием фрагментов f12-Em5-120, f16-r9-500 и длиной корня проростков, а также между наличием фрагмента f12-Em5-200 и длиной гипокотыля, отрицательные корреляции между присутствием в SRAP-профилях фрагментов f12-r14-320, f16-r9-280 и длиной корня. Отрицательная связь отмечена между образованием на профилях фрагментов Me8-Em5-1100, f12-r9-500, f16-r9-320 и длиной гипокотыля.

Поскольку полноценное развитие корешков и гипокотылей в группах проростков, обработанных культурой *Fusarium*, свидетельствует о сопротивлении угнетению со стороны патогена, логично предположить, что соответствующие генетические детерминанты могут быть задейство-

ваны в формировании защитного ответа растительного организма. Для их идентификации нами были просеквенированы фрагменты f12-Em5-120, f12-Em5-200 и f16-r9-500. Результаты поиска гомологичных последовательностей по базе данных NCBI (BLAST) представлены в табл. 5.

Т а б л и ц а 5. Результаты поиска гомологичных последовательностей фрагментов SRAP в базе данных NCBI

Table 5. Searching results of homologous sequences of SRAP fragments in the NCBI database

Фрагмент Fragment	Гомологичная последовательность BLAST Homologous BLAST sequence	Идентичность Identity	E-value
f12-Em5-120	<i>Lupinus angustifolius</i> fumarylacetoacetase (XM_019584434.1)	91 %	2e-14
f12-Em5-200	<i>Lupinus angustifolius</i> 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (XM_019579570.1)	78 %	3e-17
f16-r9-500	<i>Lupinus angustifolius</i> BURP domain protein USPL1-like (XM_019562329.1)	87 %	3e-152

Полученные последовательности показали наличие гомологии с последовательностями м-РНК узколистного люпина. Фрагменты f12-Em5-120 и f12-Em5-200 показали гомологию с м-РНК ферментов, вовлеченных в катаболизм тирозина, что может быть связано с усиленными ростовыми процессами, проходящими в корешке и гипокотиле проростка. Фрагмент f16-r9-500 показал гомологию с м-РНК белка, содержащего BURP-домен. В настоящее время функция этих белков окончательно не выяснена, однако известно, что они участвуют в процессах развития растения, а также в ответе и адаптации к стрессу [17].

**Заключение.** Оценка дифференциальной экспрессии генов при инокуляции патогеном образцов люпина узколистного и желтого позволила выявить генетические детерминанты, экспрессия которых ассоциирована с сопротивляемостью патогену. На SRAP-профилях кДНК обнаружены фрагменты, достоверно коррелирующие с биометрическими показателями 10-дневных проростков в условиях обработки *Fusarium*. Положительные статистически достоверные связи дают основание предполагать, что соответствующие генетические детерминанты могут быть задействованы в формировании защитного ответа растения на воздействие грибной инфекции.

Фрагменты f12-r14-290 и f16-Em12-1100 характерны для образцов люпина узколистного без признаков угнетения в условиях обработки возбудителем фузариоза. У образцов люпина желтого с невосприимчивостью к инфекции ассоциированы фрагменты f12-Em5-120, f12-Em5-200 и f16-r9-500. Идентификация соответствующих генетических детерминант посредством секвенирования транскриптов и поиска гомологии в базах данных BLAST позволила предположить наиболее вероятную функцию белкового продукта – участие в механизмах формирования неспецифической устойчивости растений к болезням.

Дальнейшее изучение экспрессирующихся в условиях присутствия патогена генетических детерминант люпинов узколистного и желтого может помочь в поиске новых факторов устойчивости. Поиск и выявление генов, определяющих механизмы неспецифической устойчивости к болезням, позволит включать их в селекционный процесс и создавать новые сорта люпина, невосприимчивые к фузариозу.

### Список использованных источников

1. Studies the resistance of lupine for *Fusarium oxysporum* f. sp. lupini through molecular genetic technique / A. H. Zian [et al.] // World Appl. Sci. J. – 2013. – Vol. 26, N 8. – P. 1064–1069.
2. The impact of *Fusarium avenaceum* on lupin production on the Canadian prairies / S. F. Hwang [et al.] // Can. J. Plant Pathol. – 2014. – Vol. 36, N 3. – P. 291–299. <https://doi.org/10.1080/07060661.2014.925507>
3. Industry biosecurity plan for the grains industry. Threat Specific Contingency Plan. *Fusarium* wilt (of chickpea, lentil & lupin) *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, *F. oxysporum* f. sp. *lentis*, *F. oxysporum* f. sp. *lupini* / Prep. by K. Lindbeck. – Australia, 2009. – 38 p.
4. Characterization of *Fusarium* spp. associated with lupin in central Alberta, Canada / M. D. Holtz [et al.] // Can. J. Plant Pathol. – 2013. – Vol. 35, N 1. – P. 56–67. <https://doi.org/10.1080/07060661.2012.729538>
5. Jenkinson, P. Splash dispersal of conidia of *Fusarium culmorum* and *Fusarium avenaceum* / P. Jenkinson, D. W. Parry // Mycol. Res. – 1994. – Vol. 98, N 5. – P. 506–510. [https://doi.org/10.1016/s0953-7562\(09\)80468-1](https://doi.org/10.1016/s0953-7562(09)80468-1)
6. Nowicki, B. Pathogenic fungi associated with blue lupine seeds / B. Nowicki // Acta Agrobot. – 1995. – Vol. 48, N 2. – P. 59–64. <https://doi.org/10.5586/aa.1995.016>
7. Martin, R. A. Use of a high through-put jet sampler for monitoring viable airborne propagules of *Fusarium* in wheat / R. A. Martin // Can. J. Plant Pathol. – 1988. – Vol. 10, N 4. – P. 359–360. <https://doi.org/10.1080/07060668809501713>

8. Effect of seeding practices, temperature and seed treatments on fusarium seedling blight of narrow-leaved lupin / K. F. Chang [et al.] // *Can. J. Plant Sci.* – 2011. – Vol. 91, N 5. – P. 859–872. <https://doi.org/10.4141/cjps2010-039>
9. Berrocal-Lobo, M. *Arabidopsis* defense response against *Fusarium oxysporum* / M. Berrocal-Lobo, A. Molina // *Trends Plant Sci.* – 2008. – Vol. 13, N 3. – P. 145–150. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2007.12.004>
10. Diener, A. C. Resistance to *Fusarium oxysporum* 1, a dominant *Arabidopsis* disease-resistance gene, is not race specific / A. C. Diener, F. M. Ausubel // *Genetics.* – 2005. – Vol. 171, N 1. – P. 305–321. <https://doi.org/10.1534/genetics.105.042218>
11. Li, G. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in *Brassica* / G. Li, C. F. Quiros // *Theor. Appl. Genet.* – 2001. – Vol. 103, N 2–3. – P. 455–461. <https://doi.org/10.1007/s001220100570>
12. Development of SRAP, SRAP-RGA, RAPD and SCAR markers linked with a *Fusarium* wilt resistance gene in eggplant / N. Mutlu [et al.] // *Theor. Appl. Genet.* – 2008. – Vol. 117, N 8. – P. 1303–1312. <https://doi.org/10.1007/s00122-008-0864-6>
13. Ma, J.-X. Genetic diversity of wild *Medicago sativa* by sequence-related amplified polymorphism markers in Xingjiang region, China / J.-X. Ma, T.-M. Wang, X.-S. Lu // *Pakistan J. Bot.* – 2013. – Vol. 45, N 6. – P. 2043–2050.
14. CDD: a Conserved Domain Database for the functional annotation of proteins / A. Marchler-Bauer [et al.] // *Nucleic Acids Res.* – 2011. – Vol. 39. – P. D225–D259. <https://doi.org/10.1093/nar/gki069>
15. SNARE-protein-mediated disease resistance at the plant cell wall / N. C. Collins [et al.] // *Nature.* – 2003. – Vol. 425, N 6961. – P. 973–977. <https://doi.org/10.1038/nature02076>
16. Jarsch, I. K. Perspectives on remorin proteins, membrane rafts, and their role during plant-microbe interactions / I. K. Jarsch, T. Ott // *Mol. Plant Microbe Interact.* – 2011. – Vol. 24, N 1. – P. 7–12. <https://doi.org/10.1094/mpmi-07-10-0166>
17. Identification and Expression Analysis of BURP Domain-Containing Genes in *Medicago truncatula* / Y. Li [et al.] // *Front. Plant Sci.* – 2016. – Vol. 7. – 16 p. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00485>

## References

1. Zian A. H., El-Demardash I. S., El-Mouhamady A. A., El-Barougy E. Studies the resistance of lupine for *Fusarium oxysporum* f. sp. lupini through molecular genetic technique. *World Applied Sciences Journal*, 2013, vol. 26, no. 8, pp. 1064–1069.
2. Hwang S. F., Chang K. F., Strelkov S. E., Gossen B. D., Howard R. J. The impact of *Fusarium avenaceum* on lupin production on the Canadian prairies. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 2014, vol. 36, no. 3, pp. 291–299. <https://doi.org/10.1080/07060661.2014.925507>
3. Lindbeck K. (ed.) Industry biosecurity plan for the grains industry. Threat Specific Contingency Plan. Fusarium wilt (of chickpea, lentil & lupin) *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, *F. oxysporum* f. sp. *lentis*, *F. oxysporum* f. sp. *lupini*. Australia, 2009. 38 p.
4. Holtz M. D., Chang K.-F., Hwang S. F., Gossen B. D., Strelkov S. E. Characterization of *Fusarium* spp. associated with lupin in central Alberta, Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 2013, vol. 35, no. 1, pp. 56–67. <https://doi.org/10.1080/07060661.2012.729538>
5. Jenkinson P., Parry D. W. Splash dispersal of conidia of *Fusarium culmorum* and *Fusarium avenaceum*. *Mycological Research*, 1994, vol. 98, no. 5, pp. 506–510. [https://doi.org/10.1016/s0953-7562\(09\)80468-1](https://doi.org/10.1016/s0953-7562(09)80468-1)
6. Nowicki B. Patogenic fungi associated with blue lupine seeds. *Acta Agrobotanica*, 1995, vol. 48, no. 2, pp. 59–64. <https://doi.org/10.5586/aa.1995.016>
7. Martin R. A. Use of a high through-put jet sampler for monitoring viable airborne propagules of *Fusarium* in wheat. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 1988, vol. 10, no. 4, pp. 359–360. <https://doi.org/10.1080/07060668809501713>
8. Chang K. F., Hwang S. F., Gossen B. D., Strelkov S. E., Turnbull G. D., Bing D. J. Effect of seeding practices, temperature and seed treatments on fusarium seedling blight of narrow-leaved lupin. *Canadian Journal of Plant Science*, 2011, vol. 91, no. 5, pp. 859–872. <https://doi.org/10.4141/cjps2010-039>
9. Berrocal-Lobo M., Molina A. *Arabidopsis* defense response against *Fusarium oxysporum*. *Trends in Plant Science*, 2008, vol. 13, no. 3, pp. 145–150. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2007.12.004>
10. Diener A. C., Ausubel F. M. Resistance to *Fusarium oxysporum* 1, a dominant *Arabidopsis* disease-resistance gene, is not race specific. *Genetics*, 2005, vol. 171, no. 1, pp. 305–321. <https://doi.org/10.1534/genetics.105.042218>
11. Li G., Quiros C. F. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in *Brassica*. *Theoretical and Applied Genetics*, 2001, vol. 103, no. 2–3, pp. 455–461. <https://doi.org/10.1007/s001220100570>
12. Mutlu N., Boyacı F. H., Göçmen M., Abak K. Development of SRAP, SRAP-RGA, RAPD and SCAR markers linked with a *Fusarium* wilt resistance gene in eggplant. *Theoretical and Applied Genetics*, 2008, vol. 117, no. 8, pp. 1303–1312. <https://doi.org/10.1007/s00122-008-0864-6>
13. Ma J.-X., Wang T.-M., Lu X.-S. Genetic diversity of wild *Medicago sativa* by sequence-related amplified polymorphism markers in Xingjiang region, China. *Pakistan Journal of Botany*, 2013, vol. 45, no. 6, pp. 2043–2050.
14. Marchler-Bauer A., Lu Sh., Anderson J. B., Chitsaz F., Derbyshire M. K., De Weese-Scott C., Fong J. H., Geer L. Y., Geer R. C., Gonzales N. R., Gwadz M., Hurwitz D. I., Jackson J. D., Ke Zh., Lanczycki C. J., Lu F., Marchler G. H., Mullokkandov M., Omelchenko M. V., Robertson C. L., Song J. S., Thanki N., Yamashita R. A., Zhang D., Zhang N., Zheng C., Bryant S. H. CDD: a Conserved Domain Database for the functional annotation of proteins. *Nucleic Acids Research*, 2011, vol. 39, pp. D225–D259. <https://doi.org/10.1093/nar/gki069>

15. Collins N. C., Thordal-Christensen H., Lipka V., Bau S., Kombrink E., Qiu J.-L., Hüchelhoven R., Stein M., Freialdenhoven A., Somerville S. C., Schulze-Lefert P. SNARE-protein-mediated disease resistance at the plant cell wall. *Nature*, 2003, vol. 425, no. 6961, pp. 973–977. <https://doi.org/10.1038/nature02076>
16. Jarsch I. K., Ott T. Perspectives on remorin proteins, membrane rafts, and their role during plant-microbe interactions. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2011, vol. 24, no. 1, pp. 7–12. <https://doi.org/10.1094/mpmi-07-10-0166>
17. Li Y., Chen X., Chen Z., Cai R., Zhang H., Xiang Y. Identification and Expression Analysis of BURP Domain-Containing Genes in *Medicago truncatula*. *Frontiers in Plant Science*, 2016, vol. 7. 16 p. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00485>

### Информация об авторах

*Сысолятин Евгений Николаевич* – мл. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: e.sysoliatin@igc.by.

*Анохина Вера Степановна* – канд. биол. наук, доцент. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, Минск, Республика Беларусь). E-mail: anokhina@tut.by.

*Анисимова Наталья Владимировна* – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: n.anisimova@igc.by.

*Бабак Ольга Геннадьевна* – канд. биол. наук, доцент, вед. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: babak\_olga@mail.ru.

*Кильчевский Александр Владимирович* – академик, д-р биол. наук, профессор, научный руководитель лаборатории. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kilchev@presidium.bas-net.by.

### Information about the authors

*Sysoliatin Eugeny N.* – Junior researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Science of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: e.sysoliatin@igc.by.

*Anokhina Vera S.* – Ph. D. (Biology), Assistant professor. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: anokhina@tut.by.

*Anisimova Natalia V.* – Ph. D. (Biology), Senior researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Science of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: n.anisimova@igc.by.

*Babak Olga G.* – Ph. D. (Biology), Assistant professor, Leading researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Science of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: babak\_olga@mail.ru.

*Kilchevsky Alexander V.* – Academician, D. Sc. (Biology), Professor, Scientific leader of the Laboratory. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Science of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kilchev@presidium.bas-net.by.