

ISSN 1561-8323 (Print)

ISSN 2524-2431 (Online)

УДК 577.21:631.527:633.367

<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2021-65-3-330-336>

Поступило в редакцию 30.04.2021

Received 30.04.2021

Е. Н. Сысолятин¹, В. С. Анохина², Н. В. Анисимова¹, О. Г. Бабак¹,
академик А. В. Кильчевский¹

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

²Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ЛЮПИНА ЖЕЛТОГО ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ ИЗОЛЯТАМИ ВОЗБУДИТЕЛЯ АНТРАКНОЗА

Аннотация. Изучена дифференциальная экспрессия генов у проростков люпина желтого, обработанных суспензией спор возбудителя антракноза *Colletotrichum lupini*. В результате анализа SRAP-профилей выявлены ПЦР-фрагменты, присутствующие у образцов, демонстрирующих устойчивость к патогену. Соответствующие им генетические детерминанты, вероятно, участвуют в обеспечении устойчивости (толерантности) растений люпина к антракнозу.

Ключевые слова: люпин желтый, антракноз, кДНК, SRAP-типирование

Для цитирования. Дифференциальная экспрессия генов люпина желтого при инфицировании изолятами возбудителя антракноза / Е. Н. Сысолятин [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2021. – Т. 65, № 3. – С. 330–336. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2021-65-3-330-336>

Eugeny N. Sysoliatin¹, Vera S. Anokhina², Natalia V. Anisimova¹, Olga G. Babak¹,
Academician Alexander V. Kilchevsky¹

¹Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

²Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

ASSESSMENT OF THE DIFFERENTIAL GENE EXPRESSION IN ANTHRACNOSE TREATED SEEDLINGS OF YELLOW LUPINE

Abstract. Seedlings of yellow lupine treated with *Colletotrichum lupini* isolate were studied by the method of SRAP-analysis with the purpose to assess the differential expression of genes. As a result, the PCR fragment corresponding to tolerant seedlings was found. The genetic determinants found are likely involved in the control of the resistance (tolerance) of lupine plants to anthracnose.

Keywords: yellow lupin, anthracnose, cDNA, SRAP genotyping

For citation. Sysoliatin E. N., Anokhina V. S., Anisimova N. V., Babak O. G., Kilchevsky A. V. Assessment of the differential gene expression in anthracnose treated seedlings of yellow lupin. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2021, vol. 65, no. 3, pp. 330–336 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2021-65-3-330-336>

Введение. Значительный успех в обеспечении устойчивого развития кормовых ресурсов, а также повышении плодородия почвы может быть достигнут за счет расширения культивирования видов рода *Lupinus*. Люпин желтый (*Lupinus luteus* L.) характеризуется высоким содержанием легкоусвояемого белка, сбалансированного по аминокислотному составу [1]. Благоприятный биохимический состав семян и зеленой массы, включающий помимо белка пищевые волокна, витамины, микро- и макроэлементы, делает его ценным растительным сырьем для производства высококачественных кормов [2; 3].

Тем не менее, за последние несколько десятилетий значимым препятствием выращиванию люпина желтого стало поражение этой культуры возбудителем антракноза, грибом *Colletotrichum* (половая стадия – *Glomerella*, отдел Аскомицеты). В настоящее время для люпина желтого отсутствуют сведения о существовании селекционного материала, который обладал бы полной устойчивостью к данному заболеванию, хотя есть линии и сорта, обладающие частичной устойчивостью [4; 5].

Повысить эффективность селекционных программ люпина возможно с применением современных молекулярных технологий при их сочетании с традиционными методами гибридизации и отбора. Низкая степень генетического разнообразия у люпина желтого [6] вызывает потребность в применении надежных методов генетического анализа для дифференциации и паспортизации сортов, а также для маркирования ценных признаков, в том числе и устойчивости к антракнозу. Исследования генетической детерминации устойчивости к заболеваниям у люпина желтого осложнены отсутствием полного геномного сиквенса и значительно более слабой изученностью по сравнению с люпином узколистным. Тем не менее, к настоящему времени проведено секвенирование транскриптома люпина желтого [7], разработан ряд EST-SSR и InDel маркеров для характеристики селекционного материала [8]. Сравнительное изучение генетических карт узколистного люпина и люпина желтого позволило обнаружить QTL-локус, связанный с устойчивостью к антракнозу и выявить сходство с геном *Lanr1* люпина узколистного [9].

Целью нашей работы было выявление дифференциальной экспрессии генов у проростков люпина желтого разной степени устойчивости к возбудителю антракноза с помощью SRAP-генотипирования.

Материалы и методы исследования. Для характеристики устойчивости исходных сортов люпина желтого к антракнозу был проведен лабораторный эксперимент оценки устойчивости по спорофиту рулонным методом, заключающийся в искусственном инфицировании проростков суспензией спор гриба *Colletotrichum lupini*. Для обработки растений в опытных группах использовали смыв спор изолята из коллекции возбудителей антракноза НИЛ молекулярной генетики и биотехнологии (НИЛ МГиБ) кафедры генетики биологического факультета БГУ. Споровая нагрузка у изолята *Colletotrichum lupini* составила $7,68 \cdot 10^7$ спор в 1 мл суспензии.

Учет воздействия патогена на образцы разных сортов проводили по количеству пораженных болезнью проростков и по разнице в размерах корешка и гипокотилия в опытных группах в сравнении с проростками в контрольных группах (без обработки).

В качестве материала для молекулярных исследований использовали комплементарную ДНК (кДНК) проростков люпина желтого, полученных из семян, подвергнутых обработке суспензией спор изолятов *Colletotrichum* в рамках эксперимента по оценке устойчивости к антракнозу.

Эксперимент включал 2 группы проростков сортообразца МЛ, сортов Tremosilla, БСХА13, Престиж из коллекции НИЛ МГиБ: интактные (контрольный вариант) и обработанные изолятом *Colletotrichum*. Отбор биологического материала проводили в трех повторностях. Корешки от трех проростков отбирали индивидуально, после чего растирали с жидким азотом. РНК выделяли из корешков 10-дневных проростков люпина, полученных с использованием рулонного метода. Выделение РНК осуществляли с помощью реагента TRIzolTM (Applied Biosystems). Синтез цепи кДНК осуществляли с помощью обратной транскриптазы RevertAidTM (Thermo Scientific).

Для анализа образцов применен метод SRAP-анализа (Sequence-related amplified polymorphism), основанный на амплификации открытых рамок считывания и позволяющий проводить типирование пула кДНК [10].

Комплементарную ДНК (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

Table 1. List of the SRAP primers used in the work

Праймер Primer	Последовательность 5'-3' Sequence 5'-3'	Ссылка Reference
Me8	TGAGTCCAAACCGGACT	[11]
F12	CGAATCTTAGCCGGAGC	[12]
F16	GATCCAGTTACCGGCAC	[12]
Em12	GACTGCGTACGAATTCTC	[11]
Em5	GACTGCGTACGAATTAAC	[11]
r9	GACACCGTACGAATTTGA	[12]
r14	CGCACGTCCGTAATTAAC	[12]

SRAP-ПЦР проводили в реакционной смеси объемом 15 мкл, содержащей следующие компоненты: 1 ед. Taq-полимеразы (ArtTaq, АртБиоТех), 1х ПЦР-буфер, 2 mM MgCl₂, 200 мкМ каждого dNTP, 0,5 μM 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, вычисленный в программе Statistica 8.0.

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 ([13], база данных CDD).

Результаты и их обсуждение. Оценка устойчивости образцов МЛ, Tremosilla, БСХА13, Престиж с помощью рулонного метода показала, что наибольшим баллом устойчивости к антракнозу обладал образец МЛ (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. Характеристика сортов люпина желтого (*Lupinus luteus* L.) по устойчивости к антракнозу (изолят *Colletotrichum lupini*)

T a b l e 2. Characteristics of the varieties of yellow lupine (*Lupinus luteus* L.) for resistance to anthracnose (*Colletotrichum lupini* isolate)

Наименование образца, вариант опыта Name of the sample, variant of the experiment		Длина, см Length, cm				Поражаемость, % Defeatibility, %	Балл устойчивости Resilience score
		корешка spine		гипокотиль hypocotyl			
		$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	Cv, %	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	Cv, %		
МЛ	контроль*	6,36 ± 0,28	15,72	2,00 ± 0,28	50,0	0,0	н/о**
	опыт	6,71 ± 0,28	18,63	3,69 ± 0,36	43,90	0,0	9
Tremosilla	контроль	7,38 ± 0,38	22,49	3,80 ± 0,42	47,63	0,0	н/о
	опыт	6,21 ± 0,45	32,37	3,91 ± 0,36	40,66	100,0	1
БСХА-13	контроль	6,09 ± 0,24	16,09	3,89 ± 0,48	50,64	0,0	н/о
	опыт	5,34 ± 0,46	35,39	4,40 ± 0,42	39,09	100,0	1
Престиж	контроль	5,69 ± 0,24	18,98	3,41 ± 0,35	45,45	0,0	н/о
	опыт	5,87 ± 0,49	36,29	4,02 ± 0,31	33,58	89,47	1

П р и м е ч а н и я: * – контроль без воздействия патогена, опыт – с воздействием суспензии спор гриба *Colletotrichum lupini*; ** – невозможно определить.

N o t e s: * – control without the action of pathogene, experiment – with the action of the suspension of mushroom spores of *Colletotrichum lupini*; ** – it is impossible to determine.

В результате реакции амплификации с 9 из 12 использованных комбинаций SRAP праймеров были выявлены четко различимые на электрофоретическом спектре фрагменты. Всего было получено 216 (24 образца, 9 комбинаций праймеров) индивидуальных электрофоретических профилей, на которых обнаруживались полиморфные фрагменты (рис. 1).

Число фрагментов на профилях варьировало от 1 до 12, число полиморфных фрагментов – от 1 до 11. Длина полученных фрагментов находилась в диапазоне 120–1000 п. н. (табл. 3).

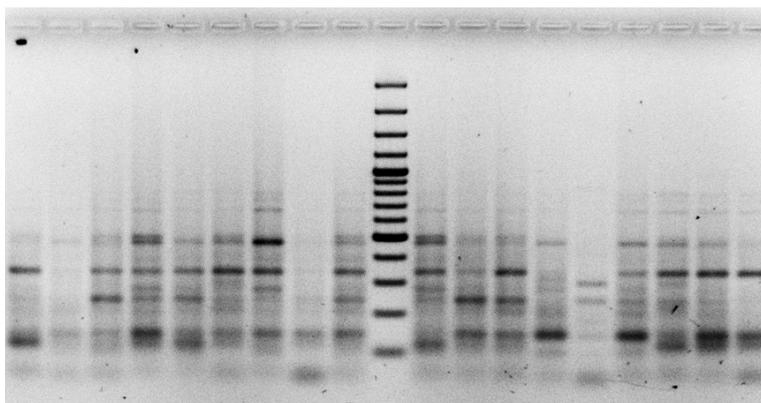


Рис. 1. Электрофоретический профиль амплификации кДНК люпина желтого с праймерами f16-r9

Fig. 1. Electrophoretic amplification profile of cDNA of yellow lupine with primers f16-r9

Т а б л и ц а 3. Показатели эффективности генотипирования кДНК люпина желтого с помощью SRAP-ПЦР

T a b l e 3. Indicators of the genotyping effectiveness of cDNA of yellow lupine with the use of SRAP-PCR

Пара праймеров Pair of primers	Число фрагментов Number of fragments	Диапазон длин фрагментов, bp Fragment length range, bp	Количество полиморфных фрагментов Number of polymorphic fragments
Me8/Em12	1	220	1
Me8/Em5	0	н/о *	н/о
Me8/r9	0	н/о	н/о
Me8/r14	0	н/о	н/о
F12/Em12	4	120–500	0
F12/Em5	3	120–200	1
F12/r9	6	120–500	3
F12/r14	10	200–700	8
F16/Em12	9	200–1000	8
F16/Em5	6	220–850	6
F16/r9	12	150–950	11
F16/r14	3	180–550	3

П р и м е ч а н и е. * – невозможно определить.

N o t e. * – it is impossible to determine.

В ряде случаев (комбинации Me8/Em5, Me8/r9, Me8/r14) на электрофоретическом геле не было выявлено четко детектируемых полос. С использованием пары праймеров F12/Em12 полиморфных фрагментов не было обнаружено.

С целью выявления связи между составом полученных профилей и устойчивостью к антракнозу нами были вычислены значения и определена достоверность корреляции между наличием фрагментов на SRAP-профилях и биометрическими показателями проростков (длина корня и гипокотиля). При установлении корреляций учитывали на профилях только четкие фрагменты размером не менее 200 п. н. Для оценки силы связи использовали коэффициент корреляции Спирмена, рассчитанный для контрольной группы проростков и группы, обработанной культурой возбудителя антракноза (табл. 4).

Полученные данные показывают, что проростки контрольной группы, образующие при SRAP-анализе фрагменты f12-r14-500 и f16-em5-220, характеризовались большей длиной корешков, тогда как наличие фрагментов f16-r9-800, f16-r9-750 коррелировало с более короткими корешками. В группе проростков, обработанной смывами спор возбудителя антракноза, были выявлены корреляции между присутствием в SRAP-профилях фрагментов f12-r14-280 и f16-em12-300 и укороченным корешком. Поскольку угнетение роста под воздействием патогена

Т а б л и ц а 4. Корреляции между составом SRAP профилей и длиной корешка проростков люпина желтого
 Table 4. Correlations between the composition of the SRAP profiles and the length of the root of yellow lupine seedlings

SRAP-RGA праймеры SRAP-RGA primers	Длина фрагмента Fragment length	Длина корешка Spine length	
		Коэффициент корреляции Спирмена между наличием фрагмента и длиной корешка, ρ Spearman's correlation coefficient between the presence of a fragment and the length of the root, ρ	Уровень значимости, p Significance level, p
<i>Контрольная группа проростков</i>			
f12-r14	500	0,65	0,022
f16-em5	220	0,71	0,009
f16-r9	800,750	-0,64	0,024
<i>Проростки, обработанные культурой возбудителя антракноза</i>			
f12-r14	280	-0,69	0,013
f16-em12	300	-0,66	0,018

расценивается как признак заболевания, указанные фрагменты могут свидетельствовать о восприимчивости генотипа к антракнозу.

Достоверных корреляций между составом SRAP-профилей и длиной гипокотыля в обеих группах проростков выявлено не было.

Поскольку по результатам определения реакции проростков люпина желтого на обработку суспензией спор возбудителя антракноза было выявлено, что устойчивость к данной инфекции демонстрировали только проростки сортообразца МЛ, нами был осуществлен поиск характерных для проростков МЛ фрагментов на SRAP-профилях. Так, был обнаружен фрагмент f16-Em12-1000, который преимущественно образовывался у проростков сортообразца МЛ в обработанной суспензией спор антракноза группе ($r_s = 0,68, p = 0,014$). В контрольной группе проростки МЛ четкий фрагмент не образовывали, что может свидетельствовать об индукции экспрессии соответствующей мРНК при обработке проростков культурой возбудителя антракноза (рис. 2).

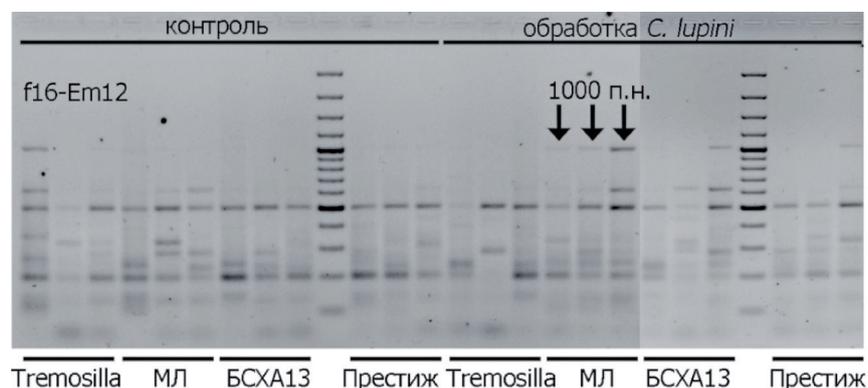


Рис. 2. Результат амплификации кДНК люпина желтого с праймерами f16-Em12

Fig. 2. Results of amplification of cDNA of yellow lupine with primers f16-Em12

Секвенирование данного фрагмента показало высокую степень сходства с последовательностью РНК 4-гидрокси-3-метилбут-2-ен-1-ил дифосфат синтазы (НМВ-РР синтазы) люпина узколистного. Известно, что соответствующий фермент участвует в биосинтезе изопреноидов (покрытие составило 100 %, идентичность – 96 %, E-value – 0,0). Изопреноидные соединения имеют важное биологическое значение, к ним относят множество физиологически активных веществ. Изопреноидную природу имеют многие гормоны растений, некоторые витамины, антибиотики, пигменты, в том числе участвующие в фотосинтезе, аттрактанты и прочие вещества [14].

Заключение. Таким образом, SRAP-анализ дифференциальной экспрессии генов люпина желтого позволил выявить фрагмент f16-Em12-1000, который преимущественно образовывался

у проростков наиболее устойчивого к антракнозу сортообразца МЛ в обработанной суспензией спор антракноза группе. Секвенирование данного фрагмента показало высокую степень сходства с последовательностью РНК фермента, участвующего в биосинтезе изопреноидов, что может свидетельствовать о вовлеченности этого процесса в обеспечение устойчивости к антракнозу у люпина желтого.

Наличие в SRAP-профилях генотипов фрагментов f12-r14-280, f16-em12-300 коррелирует с восприимчивостью к антракнозу, что следует учитывать при молекулярно-генетическом тестировании экспериментального материала.

Список использованных источников

1. Glencross, B. Assessment of the nutritional variability of lupins as an aquaculture feed ingredient: Final Report for the Grains Research Committee of WA Project Fisheries Research Contract Report No. 6. Department of Fisheries / B. Glencross, J. Curnow, W. Hawkins. – Western Australia, 2003. – 44 p.
2. Evaluation of dietary inclusion of yellow lupin (*Lupinus luteus*) kernel meal on the growth, feed utilisation and tissue histology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) / B. Glencross [et al.] // *Aquaculture*. – 2004. – Vol. 235, N 1–4. – P. 411–422. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.09.022>
3. Proteomic characterization of seeds from yellow lupin (*Lupinus luteus* L.) / T. Ogura [et al.] // *Proteomics*. – 2014. – Vol. 14, N 12. – P. 1543–1554. <https://doi.org/10.1002/pmic.201300511>
4. Identification of anthracnose resistance in yellow lupin (*Lupinus luteus* L.) and its incorporation into breeding lines / K. N. Adhikari [et al.] // *Plant Breed.* – 2011. – Vol. 130, N 6. – P. 660–664. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2011.01880.x>
5. Купцов, Н. С. Основные результаты селекции видов люпина в Беларуси и очередные этапы их доместикации / Н. С. Купцов, Т. П. Миронова // *Генетика и биотехнология XXI века. Фундаментальные и прикладные аспекты: материалы Междунар. науч. конф.* – Минск, 2008. – С. 119–120.
6. Development of microsatellite markers in *Lupinus luteus* (*Fabaceae*) and cross-species amplification in other lupine species / L. Gonzalez [et al.] // *American Journal of Botany*. – 2010. – Vol. 97, N 8. – P. e72–e74. <https://doi.org/10.3732/ajb.1000170>
7. Yellow lupin (*Lupinus luteus* L.) transcriptome sequencing: molecular marker development and comparative studies / L. B. Parra-González [et al.] // *BMC Genomics*. – 2012. – Vol. 13, N 1. – P. 425. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-425>
8. Development and characterization of InDel markers for *Lupinus luteus* L. (*Fabaceae*) and cross-species amplification in other *Lupinus* species / C. E. Osorio [et al.] // *Electron. J. Biotechn.* – 2018. – Vol. 31. – P. 44–47. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2017.11.002>
9. Genetic and comparative mapping of *Lupinus luteus* L. highlight syntenic regions with major orthologous genes controlling anthracnose resistance and flowering time / N. Lichtin [et al.] // *Sci. Rep.* – 2020. – Vol. 10, N 1. – Art. 19174. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76197-w>
10. 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>
11. 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>
12. 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 Journal of Botany*. – 2013. – Vol. 45, N 6. – P. 2043–2050.
13. CDD/SPARCLE: the conserved domain database in 2020 / S. Lu [et al.] // *Nucleic Acids Res.* – 2020. – Vol. 48, N D1. – P. D265–D268. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz991>
14. Биологический энциклопедический словарь / М. С. Гиляров [и др.]. – 2-е изд. – М., 1986. – 864 с.

References

1. Glencross B., Curnow J., Hawkins W. *Assessment of the nutritional variability of lupins as an aquaculture feed ingredient: Final Report for the Grains Research Committee of WA Project Fisheries Research Contract Report No. 6. Department of Fisheries*. Western Australia, 2003. 44 p.
2. Glencross B., Evans D., Hawkins W., Jones B. Evaluation of dietary inclusion of yellow lupin (*Lupinus luteus*) kernel meal on the growth, feed utilisation and tissue histology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 2004, vol. 235, no. 1–4, pp. 411–422. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.09.022>
3. Ogura T., Ogihara J., Sunairi M., Takeishi H., Aizawa T., Olivos-Trujillo M. R., Maureira-Butler I. J., Salvo-Garrido H. E. Proteomic characterization of seeds from yellow lupin (*Lupinus luteus* L). *Proteomics*, 2014, vol. 14, no. 12, pp. 1543–1554. <https://doi.org/10.1002/pmic.201300511>
4. Adhikari K. N., Thomas G., Buirchell B. J., Sweetingham M. W. Identification of anthracnose resistance in yellow lupin (*Lupinus luteus* L.) and its incorporation into breeding lines. *Plant Breeding*, 2011, vol. 130, no. 6, pp. 660–664. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2011.01880.x>

5. Kuptsov N. S., Mironova T. P. The main results of lupine species selection in Belarus and subsequent stages of its domestication. *Genetika i biotekhnologiya XXI veka. Fundamentalnye I prikladnye aspekty: materialy mezhdunarodnoi nauchnoi konferencii* [Genetics and biotechnology of XXI century. Fundamental and applied aspects: proceedings of International Scientific Conference]. Minsk, 2008, pp. 119–120 (in Russian).

6. Gonzalez L., Straub S., Doyle J., Ortega P., Garrido H., Butler I. Development of microsatellite markers in *Lupinus luteus* (Fabaceae) and cross-species amplification in other lupine species. *American Journal of Botany*, 2010, vol. 97, no. 8, pp. e72–e74. <https://doi.org/10.3732/ajb.1000170>

7. Parra-González L. B., Aravena-Abarzúa G. A., Navarro-Navarro C. S., Udall J., Maughan J., Peterson L. M., Salvo-Garrido H. E., Maureira-Butler I. J. Yellow lupin (*Lupinus luteus* L.) transcriptome sequencing: molecular marker development and comparative studies. *BMC Genomics*, 2012, vol. 13, no. 1, pp. 425. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-425>

8. Osorio C. E., Udall J. A., Salvo-Garrido H., Maureira-Butler I. J. Development and characterization of InDel markers for *Lupinus luteus* L. (Fabaceae) and cross-species amplification in other *Lupin* species. *Electronic Journal of Biotechnology*, 2018, vol. 31, pp. 44–47. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2017.11.002>

9. Lichtin N., Salvo-Garrido H., Till B., Caligari P. D. S., Rupayan A., Westermeyer F., Olivos M. Genetic and comparative mapping of *Lupinus luteus* L. highlight syntenic regions with major orthologous genes controlling anthracnose resistance and flowering time. *Scientific Reports*, 2020, vol. 10, no. 1, art. 19174. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76197-w>

10. 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>

11. Mutlu N., Boyaci 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>

12. 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.

13. Lu S., Wang J., Chitsaz F., Derbyshire M. K., Geer R. C., Gonzales N. R., Gwadz M., Hurwitz D. I., Marchler G. H., Song J. S., Thanki N., Yamashita R. A., Yang M., Zhang D., Zheng C., Lanczycki C. J., Marchler-Bauer A. CDD/SPARCLE: the conserved domain database in 2020. *Nucleic Acids Research*, 2020, vol. 48, no. D1, pp. D265–D268. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz991>

14. Gilyarov M. S., Babaev A. A., Vinberg G. G., Zavarzin G. A. [et al.] *Biological encyclopedic dictionary*. 2d ed. Moscow, 1986. 846 p. (in Russian).

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, 220004, 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: O.Babak@igc.by.

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 Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: E.Sysoliatin@igc.by.

Anokhina Vera S. – Ph. D. (Biology), Associate professor. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220004, 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 Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: N.Anisimova@igc.by.

Babak Olga G. – Ph. D. (Biology), Associate professor, Leading researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: O.Babak@igc.by.

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