

Обзорная статья  
УДК 633.367.2:631.526.32:577.21  
DOI: 10.30901/2658-6266-2022-2-01



## Перспективы получения низкоалкалоидных и адаптивных форм люпина узколистного на основе геномных и транскриптомных ресурсов вида

М. А. Вишнякова, Е. А. Крылова

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия

**Автор, ответственный за переписку:** Маргарита Афанасьевна Вишнякова, m.vishnyakova.vir@gmail.com

Люпин узколистный (*Lupinus angustifolius* L.) называют культурой нереализованных возможностей. Продовольственный и кормовой потенциал вида не используется в полном масштабе из-за наличия в растениях хинолизидиновых алкалоидов (ХА) – вторичных метаболитов, которые придают горечь семенам и токсичны для людей и животных. Созданные за последние 50-60 лет сорта с низким содержанием ХА (“сладкие”) оказались более подвержены повреждениям со стороны сосущих насекомых и переносимых ими вирусов, чем высокоалкалоидные (“горькие”). На основе стремительно развивающихся геномных и транскриптомных ресурсов люпина узколистного выявлены молекулярно-генетические детерминанты биосинтеза алкалоидов в растениях и особенности этого биосинтеза: алкалоиды образуются в вегетативных органах растения и затем транспортируются в семена. Эти факты дали основание предложить создание “горько-сладких” форм с высоким содержанием алкалоидов в вегетативных частях растения, что позволяет снизить атаки патогенов, и минимальным в семенах. В настоящем обзоре обобщены имеющиеся предпосылки получения таких форм люпина узколистного на основе современных научных достижений. Приведены сведения о создании насыщенных генетических карт вида, в которые интегрирован локус *iuscundus* (*ius*), определяющий общее низкое содержание алкалоидов в семенах и используемый в селекционных программах. Секвенирование нового поколения позволило идентифицировать ген *RAP2-7*, кодирующий фактор транскрипции APETALA2/ETHYLENE RESPONSE FACTOR, сцепленный с локусом *ius* и расположенный в области с главными QTLs, влияющими на состав ХА. Это – вероятный ген-кандидат регуляции содержания алкалоидов в семенах люпина узколистного. Стали известны начальные этапы биосинтеза ХА и регулирующие его факторы. Осуществлены две эталонные сборки генома люпина узколистного. Все эти достижения представляют собой весомый ресурс для создания форм люпина узколистного, отсутствующих в природе, то есть с высоким содержанием алкалоидов в вегетативной массе и низким в семенах.

**Ключевые слова:** люпин узколистный, хинолизидиновые алкалоиды, биосинтез, геном, транскриптомное профилирование

**Благодарности:** Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 20-016-00072-А) и бюджетного проекта № 0481-2022-0002 «Выявление возможностей генофонда бобовых культур для оптимизации их селекции и диверсификации использования в различных отраслях народного хозяйства».

**Для цитирования:** Вишнякова М.А., Крылова Е.А. Перспективы получения низкоалкалоидных и адаптивных форм люпина узколистного на основе геномных и транскриптомных ресурсов вида. *Биотехнология и селекция растений*. 2022;5(2):5-14. DOI: 10.30901/2658-6266-2022-2-01

Прозрачность финансовой деятельности. Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы. Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы.

© Вишнякова М.А., Крылова Е.А., 2022

## Review article

DOI: 10.30901/2658-6266-2022-2-01

## Prospects for obtaining low-alkaloid and adaptive forms of narrow-leafed lupine based on the genome and transcriptome resources of the species

Margarita A. Vishnyakova, Ekaterina A. Krylova

N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, St. Petersburg, Russia

**Corresponding author:** Margarita A. Vishnyakova, m.vishnyakova.vir@gmail.com

The narrow-leafed lupine (*Lupinus angustifolius* L.) is considered as a crop of untapped opportunities. The food and forage potential of the species is not fully exploited due to the presence of quinolizidine alkaloids (QA) in plants, which are secondary metabolites that make the seeds bitter and toxic to humans and animals. Varieties with a low content of QA ("sweet" varieties) created over the last 50-60 years turned out to be more susceptible to damage by sucking insects and insect-transmitted viruses than high alkaloid ones ("bitter" varieties). Based on the rapidly developing genomic, transcriptomic and metabolomic profiling of the species, some molecular determinants and features of alkaloid biosynthesis in narrow-leafed lupine plants have been identified: alkaloids are formed in the vegetative organs of the plant and then transported to the seeds. This information substantiated the creation of "bitter-sweet" forms with a high content of alkaloids in the vegetative parts of the plant, which would make it possible to reduce the attack of pathogens, and a minimal content of alkaloids in the seeds. This review summarizes the existing prerequisites for obtaining such forms of narrow-leafed lupine on the basis of the available scientific developments. Information on the creation of saturated genetic maps of the species, in which the *iucundus* (*iuc*) locus determining the overall low alkaloid content in seeds is integrated and is used in breeding programs. The use of the new generation sequencing allowed the identification of the *RAP2-7* gene, encoding the transcription factor APETALA2/ETHYLENE RESPONSE FACTOR, which is coupled to the *iuc* locus and located in the area with the main QTLs that affect the composition of the QA. It is a likely candidate gene for regulating alkaloid content in narrow-leafed lupine seeds. The initial stages of QA biosynthesis and its regulatory factors have been revealed. Two reference assemblies of the genome of narrow-leafed lupine have been carried out. All these achievements constitute a valuable resource for the creation of forms of narrow-leafed lupine with a high content of alkaloids in the vegetative mass and low in the seeds, which are absent in nature.

**Keywords:** narrow-leafed lupine, quinolizidine alkaloids (QA), biosynthesis, genome, transcriptome profiling

**Acknowledgments:** The work was carried out with the support of the Russian Foundation for Basic Research (Project No. 20-016-00072-A) and budget project No. 0481-2022-0002 "Identification of the possibilities of legume crop genetic diversity to optimize their breeding and diversify uses in various sectors of the national economy".

**For citation:** Vishnyakova M.A., Krylova E.A. Prospects for obtaining low-alkaloid and adaptive forms of narrow-leafed lupine based on the genome and transcriptome resources of the species. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2022;5(2):5-14. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2022-2-01

Financial transparency. The authors have no financial interest in the presented materials or methods. The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work. The journal's opinion is neutral to the presented materials, the author, and his or her employer.

© Vishnyakova M.A., Krylova E.A., 2022

## Введение

Люпин узколистный (*Lupinus angustifolius* L., Fabaceae Lindl.) – широко производимый в мире вид люпина, который рассматривают как один из наиболее перспективных источников растительного белка. В Западной Европе при анализе агрономических достоинств, перспектив быстрого улучшения, выхода и качества белка, технологических аспектов, функциональных и питательных свойств у восьми сельскохозяйственных культур, люпин и горох получили преимущество над картофелем, тритикале, люцерной и другими (Linnemann, Dijkstra, 2002; Dijkstra et al., 2003).

Люпин узколистный – культура многопрофильного использования: кормовая, сидеральная, техническая и продовольственная. Последние два направления пока недостаточно развиты как в мире, так и в Российской Федерации (РФ). Техническое – в силу слабого развития соответствующих технологий переработки; продовольственное лимитируется наличием в растениях хинолизидиновых алкалоидов (ХА), которые придают горечь семенам и токсичны для людей и животных. В течение столетий при скормливании животным семена люпина вымачивали в воде при неоднократной ее смене для извлечения алкалоидов (Vishnyakova et al., 2020).

В процессе domestikации люпина узколистного, которая насчитывает менее 100 лет, открыты гены основных признаков, отличающих культуру от диких форм. Ключевой признак, который определил окультуривание вида в качестве кормового и продовольственного растения в 1930-х годах – отсутствие в семенах и вегетативной массе ХА (Sengbusch, 1942). Были описаны спонтанные рецессивные мутации *iucundus*, *esculentus* и *depressus*, которые при скрещиваниях наследуются независимо друг от друга с четким моногенным расщеплением 1:3 во втором поколении гибридов (Sengbusch, 1942; Gustafsson, Gadd, 1965). Позднее был идентифицирован еще ген *tantalus* у безалкалоидного мутанта, полученного путем обработки семян рентгеновскими лучами (Zachow, 1967). Следует отметить, что только одна мутация *iuc* (*iucundus*) из четырех известных, определяющих общее низкое содержание алкалоидов у люпина узколистного, используется в селекционных программах (Gladstones, 1970).

Как в РФ, так и за рубежом усилия селекционеров привели к созданию множества низкоалкалоидных (“сладких”) сортов люпина узколистного, у которых достигнут уровень предельно допустимой концентрации (ПДК) алкалоидов для использования в качестве продовольственной культуры – не более 0,02% от сухой массы семян во многих зарубежных странах (Frick et al., 2017) и 0,04% в РФ согласно существующим техническим условиям, разработанным во ВНИИ люпина<sup>1</sup> (ТУ-9716004-0068502-2008).

Однако, приобретая хозяйственно ценное преиму-

щество перед дикими растениями, культурные формы заплатились адаптивностью, а именно устойчивостью к поражению представителями патогенной флоры и фауны (Wink et al., 1995). Доказано резкое снижение устойчивости к поражению тлями и переносимыми ими вирусами у низкоалкалоидных форм по сравнению с высокоалкалоидными (Berlandier, 1996; Wang et al., 2000; Adhikari et al., 2012).

После получения первых доказательств того, что ХА синтезируются в листьях и затем транспортируются в семена, было выдвинуто оригинальное предложение – создание “горько-сладких форм”, сочетающих в себе горечь вегетативной массы как средство защиты от вредителей и низкое содержание алкалоидов в семенах (Wink, 1990; 1993; Wink et al., 1995).

Достижение желаемого результата – получение низкоалкалоидных и устойчивых к патогенам форм – возможно только посредством выяснения молекулярных механизмов, определяющих синтез ХА, а также познанием лежащей в его основе регуляции.

Данный обзор посвящен современным представлениям о биосинтезе ХА у люпина узколистного и о детерминирующих этот процесс молекулярно-генетических факторах, определяющих перспективы получения адаптивных форм с низким содержанием алкалоидов в семенах. Акцент сделан только на один из ряда важных признаков, обеспечивших domestikацию вида в силу его признанного приоритета в процессе окультуривания люпина и первостепенного значения для использования культуры в продовольственных целях.

## Алкалоиды люпина узколистного

Хинолизидиновые алкалоиды специфичны для рода *Lupinus* и ряда других родов бобовых. Это вторичные метаболиты – производные лизина, содержащие в молекуле ядро гетероциклического соединения хинолизидина. Большая часть из них имеет состав  $C_{15}H_xNO_2$ , где  $x = 20, 22, 24$  и  $26$  (Wink et al., 1995). Разные виды люпина имеют свой уникальный алкалоидный профиль. Обычно он состоит из четырех-пяти основных и нескольких минорных алкалоидов. Качественный состав алкалоидов используют для уточнения таксономии видов (Frick et al., 2017). Для всех видов люпина свойственно высокое содержание алкалоидов в семенах (до 4% от сухой массы) и меньшее – в вегетативной массе (до 1,5% от сухой массы). Для люпина узколистного характерны следующие основные ХА (с уровнями  $\geq 1\%$  от общего количества): люпанин, 13 $\alpha$ -гидроксилюпанин, спартеин, изолюпанин и ангустифолин (Wink et al., 1995; Kushnareva et al., 2020). Люпанин составляет 65–75 % от общего количества алкалоидов, ангустифолин и 13-гидроксилюпанин по 10–15 %. Спартеин и люпанин встречаются в минорных количествах (Blaschek et al., 2016). По ток-

<sup>1</sup> ФГБНУ «Федеральный научный центр кормопроизводства и агроэкологии им. В.Р. Вильямса», Всероссийский научно-исследовательский институт люпина (ВНИИ люпина)

сичности наиболее опасны спартеин и люпанин, далее по убывающей – изолюпанин, 13 $\alpha$ -гидроксилюпанин, ангустифолин (Allen, 1998).

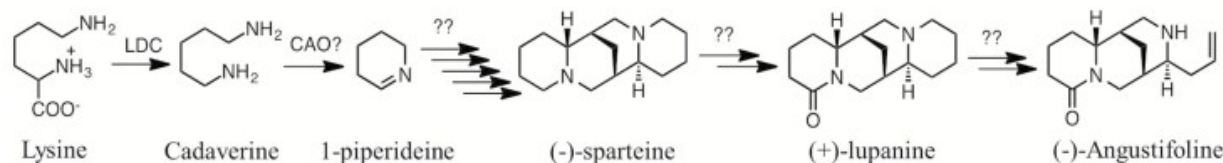
Изменчивость как суммарного содержания, так и отдельных алкалоидов в семенах люпина узколистного в зависимости от условий произрастания неоднократно отражена в научной литературе (Cowling, Tarr, 2004; Reinhard et al., 2006). Даже в низкоалкалоидных сортах их содержание в разных условиях может варьировать в довольно широких пределах, вплоть до превышающих ПДК (Romanchuk, Anokhina, 2018). Качественный состав высоко- и низкоалкалоидных форм идентичен, однако относительное содержание отдельных алкалоидов различно. Пятилетние наблюдения за соотношением отдельных алкалоидов у группы образцов люпина узколистного показали, что низкоалкалоидные образцы имели сравнительно высокую концентрацию изолюпанина, в то время как высокоалкалоидные – более высокую концентрацию ангустифолина. Сравнительно одинаковым было содержание 13 $\alpha$ -гидроксилюпанина и люпанина. Идентифицированы 47 локусов количественных признаков (QTLs), оказывающих влияние на суммарное содержание ХА и соотношение индивидуальных компонентов (Kroc et al., 2019b).

### Время и место биосинтеза алкалоидов у люпина узколистного

Многолетнее изучение биосинтеза алкалоидов у люпина узколистного не привело к единому мнению о месте их первоначального синтеза. Очевидно только, что подавляющая часть ХА образуется в зеленых надземных тканях (Frick et al., 2017) с небольшим вкладом корней (Lee et al., 2007). Довольно устойчиво представление о синтезе алкалоидов в хлоропластах листьев (Bunsupa et al., 2012a). Хлоропласты считаются местом синтеза лизина, предшественника ХА, и ключевым местом активности лизин-декарбоксилазы (LDC) – первого фермента в цепи синтеза ХА. После синтеза ХА перемещаются в репродуктивные органы по флоэме (Wink et al., 1995; Lee et al., 2007). Картина синтеза ХА у люпина

узколистного пока фрагментарна. Относительно хорошо изучены только самые первые его этапы в отличие от довольно полного представления о механизмах синтеза некоторых экономически важных алкалоидов других видов растений, например, никотина в *Nicotiana tabacum* L., морфина в *Papaver somniferum* L. и в некоторых других. У этих видов идентифицированы многие гены, кодирующие метаболиты, участвующие в биосинтезе алкалоидов, факторы транскрипции и транспортеры, а также идентифицированы ферменты и промежуточные пути синтеза (Dewey, Xie, 2013; Nagel, Facchini, 2013; Beaudoin, Facchini, 2014). На основании этих данных, а также результатов транскриптомного профилирования выявлены принципиальные аспекты биосинтеза ХА у люпина узколистного. В хлоропластах лизин-декарбоксилаза (ген *LDC*) декарбоксилирует лизин в кадаверин (Bunsupa et al., 2012a). Фермент второго этапа до недавнего времени только постулировали (Рисунок), а дальнейшие трансформации метаболитов у люпина узколистного еще недавно называли «черным ящиком» биохимии растений (Yang et al., 2017).

Секвенирование РНК из восьми различных тканей люпина узколистного позволило идентифицировать 33 гена с паттернами экспрессии, схожими с *LDC*. Эти гены рассматриваются как возможные кандидаты детерминации транспортеров и регуляторов в биосинтезе алкалоидов люпина узколистного. Один из генов кодирует медьсодержащую аминоксидазу, которую назвали кадавериноксидазой (CAO), поскольку она способна превращать продукт *LDC* кадаверин в  $\Delta^1$ -пиперидин, что показано гетерологичной экспрессией и анализами ферментативной активности белков. Таким образом, был открыт ген *LaCAO*, кодирующий фермент второго этапа биосинтеза люпина узколистного (Yang et al., 2017). Далее по мере присоединения различных функциональных групп происходят дальнейшие преобразования и возникают конечные продукты синтеза ХА, а также их транспортные и запасные формы – возможно в виде эфиров (Facchini, St-Pierre, 2005; Bunsupa et al., 2012b; Frick et al., 2017; Yang et al., 2017).



**Рисунок. Основной путь биосинтеза ХА у люпина узколистного.**  
LDC – лизин декарбоксилаза, CAO – кадавериноксидаза (по Yang et al., 2017).

**Figure. Core pathway towards the tetracyclic QAs in narrow-leaved lupin.**  
LDC – lysine decarboxylase, CAO – cadaverine oxydase (from Yang et al., 2017).

Профилирование транскриптома в различных тканях растения представляется довольно значительным шагом к дальнейшему открытию ферментов, транспортеров и регуляторов, участвующих в биосинтезе алкалоидов люпина узколистного.

Обнаружено, что в низкоалкалоидных образцах по сравнению с высокоалкалоидными значительно ниже уровень экспрессии генов *LDC* и *LaAT*. Ген *LaAT* представляет собой ортолог гена ацетилтрансферазы, участвующий в образовании сложных эфиров ХА и других конъюгатов, связанных с их синтезом (Bunsupa et al., 2012b). Иными словами, начальный этап биосинтеза ХА и некоторые последующие стадии не подвергаются блокировке на уровне транскрипции в “сладких” генотипах, как предполагали изначально (Hirai et al., 2000). Наблюдаемый низкий уровень экспрессии *LDC* в “сладких” генотипах предполагает, что биосинтез ХА регулируется на начальном этапе декарбоксилирования лизина, тогда как качественные различия в составе ХА у низко- и высокоалкалоидных форм, о которых говорилось выше, происходят за счет дополнительных этапов регуляции в процессе биосинтеза ХА (Kamphuis et al., 2021).

### Геномные и транскриптомные ресурсы люпина узколистного

Впечатляющий успех в изучении, мобилизации генетических ресурсов вида и умножении его геномных ресурсов достигнут в Австралии, которая является мировым лидером производства и экспорта зерна люпина узколистного на мировой рынок (Vishnyakova et al., 2020). В Европе лидеры развития геномных технологий вида – ученые Польши, где люпин узколистный производится в значительных масштабах (Prusiński, 2007). Возрастающее внимание к этой культуре и фундаментальным аспектам ее биологии уделяют и в ряде других стран Европы.

В течение двух последних десятилетий люпин узколистный стал одной из зернобобовых культур, исследования геномных ресурсов которой получили мощное развитие. Начало этому положило создание библиотек фрагментов экспрессируемых последовательностей (EST) (Nelson et al., 2006; 2010; Kroc et al., 2014; Fischer et al., 2015). EST использовали преимущественно для разработки ген-специфичных молекулярных маркеров.

С появлением методов секвенирования нового поколения библиотеки EST были заменены данными секвенирования РНК (RNAseq). В последние годы метод RNAseq активно используется для идентификации генов-кандидатов, кодирующих ферменты биосинтеза различных классов алкалоидов (Cárdenas et al., 2016; Rai et al., 2014). Транскриптомный анализ тканей люпина узколистного в огромной степени способствовал определению локализации синтеза и путей транспорта ХА в его растениях.

Первое исследование транскриптома люпина узколистного было осуществлено для тканей пяти органов

растения (корень, стебель, лист, цветок и семя) двух низкоалкалоидных австралийских сортов ‘Tanjil’ и ‘Unicrop’ и высокоалкалоидного дикого образца P27255. Эти данные были использованы для предсказания *in silico* ген-специфичных молекулярных SNP-маркеров, равномерно распределенных по геному люпина узколистного (Kamphuis et al., 2015). В результате исследования были идентифицированы полиморфные инсерции/делеции, а также однонуклеотидные замены, что позволило значительно увеличить насыщенность генетических карт люпина узколистного. По данным транскриптомного анализа были выделены гены-кандидаты, отвечающие за признаки, которые способствовали доместикации, в частности за содержание алкалоидов (Kamphuis et al., 2015; Hane et al., 2017).

Сравнительный анализ дифференциальной экспрессии генов у выборки “горьких” и “сладких” образцов выявил 13 генов, продукты которых предположительно вовлечены в синтез ХА (Kamel et al., 2015). В последующем по результатам транскриптомного анализа листьев высоко- и низкоалкалоидных образцов люпина узколистного выделено 12 генов-кандидатов, связанных с биосинтезом ХА. Анализ сцепления позволил оценить расположение этих генов по отношению к локусу *iucundus*. Картирование QTLs, определяющих общее содержание ХА и относительного количества отдельных алкалоидов в семенах люпина узколистного, подтвердило, что *iuc* является основным локусом, контролирующим биосинтез ХА, а также позволило идентифицировать другие геномные области, участвующие в биосинтезе ХА (Kroc et al., 2019b).

Ключевым открытием стала идентификация гена *RAP2-7*, кодирующего транскрипционный фактор семейства AP2/ERF (APETALA2/ETHYLENE RESPONSE FACTOR). Он сцеплен с локусом *iuc* и расположен в области с главными QTLs, влияющими на состав ХА, – в седьмой группе сцепления люпина узколистного и, весьма вероятно, вовлечен в регуляцию биосинтеза ХА. Кроме этого, был идентифицирован ген, кодирующий 4-гидрокситетрагидродипиколинатсинтазу (*DHDPS*), участвующую в биосинтезе L-лизина. *DHDPS* расположен на расстоянии 0,5 cM от *iuc*, что в очередной раз подтверждает значимость этого участка генома в регуляции путей биосинтеза ХА. Подтверждено также, что экспрессия *RAP2-7* была намного выше в листьях высокоалкалоидных образцов (*Iucundus*) по сравнению с низкоалкалоидными (*iucundus*) (Kroc et al., 2019b). Это на сегодняшний день позволяет считать *RAP2-7* наиболее вероятным кандидатом на роль гена, расположенного в локусе *iuc*. На роль другого кандидата претендует ген *DHDPS* (Kroc et al., 2019a). Остальные гены-кандидаты (включая ранее известные гены, кодирующие ферменты синтеза ХА) расположенные в других, по отношению к *iuc*, группах сцепления также косвенно поддерживают регуляцию биосинтеза алкалоидов люпина, типичную для транскрипционных факторов как возможных регуляторов экспрессии



генов (Kamphuis et al., 2021). Имеются многочисленные сведения о значительной роли представителей семейства транскрипционных факторов AP2/ERF в регуляции экспрессии генов, участвующих в синтезе вторичных метаболитов у других видов (см. обзор Memelink et al., 2001).

Применение метода массового анализа концов кДНК (MACE) для исследования картирующих популяций, полученных от контрастных по содержанию алкалоидов родителей, позволило выявить большое количество цис- и транс-регулируемых генов биосинтеза алкалоидов в образце с низким их содержанием. Было показано, что экспрессия генов биосинтеза алкалоидов регулируется геном, локализованным в локусе *iuc*, что в очередной раз подтверждает гипотезу о том, что транскрипционный фактор *RAP2-7* может определять низкоалкалоидный фенотип узколистного люпина и иметь практическое значение в маркер-опосредованной селекции (Plewiński et al., 2019; Czepiel et al., 2021).

Данные секвенирования EST и РНК дают возможность анализа дифференциально экспрессирующихся генов. Этот анализ стал популярным за последнее десятилетие и у видов люпина. Исследования транскриптома оказались чрезвычайно полезными для аннотации двух эталонных сборок генома *L. angustifolius*. В последние два десятилетия созданы насыщенные генетические карты люпина узколистного (Nelson et al., 2010; Yang et al., 2013; Kamphuis et al., 2015; Zhou et al., 2018) и большие библиотеки образцов, содержащих крупные геномные вставки (Gao et al., 2011; Kasprzak et al., 2006). В этих исследованиях использованы результаты работ, выполненных на модельных видах бобовых – *Medicago truncatula* Gaertn. и *Lotus japonicus* L. (Zhu et al., 2005). Хотя люпины таксономически дальше от этих моделей, чем другие экономически значимые виды бобовых, информация о синтеномном расположении генов в хромосомах люпина и у этих моделей полезна как для поиска полиморфных маркеров, так и для обнаружения генов. Секвенирование геномов двух этих модельных видов позволило получить доказательства консервативной синтении хромосом *L. angustifolius*, *M. truncatula*, *L. japonicus* и, как следствие, интенсифицировать секвенирование генома люпина (Nelson et al., 2006; 2010). Гены, отвечающие за низкое содержание алкалоидов, были картированы наряду с другими, определяющими признаки доместикиации и селекционно значимые характеристики. Локус *iuc* был интегрирован в первую и все последующие версии молекулярно-генетических карт в район длиной 746 тысяч пн на 7-й хромосоме (Nelson et al., 2006; 2010; Hane et al., 2017).

Несмотря на невыясненную до сих пор молекулярную структуру этого локуса, разработаны молекулярные маркеры, сцепленные с ним. Первые маркеры к локусу *iuc* были разработаны посредством технологии фингерпринтинга полиморфизма длин микросателлитных заякоренных фрагментов (MFLP). Маркер, показывающий наилучшую корреляцию с низкоалкалоидными фенотипа-

ми, был успешно преобразован в простой кодоминантный маркер на основе ПЦР и назван *iucLi*. Он локализован на расстоянии 0,9 сМ от локуса *iuc*. Соответствие между маркерным генотипом и фенотипом составляло 100% у 25 современных сортов и 86,4% среди 125 образцов базовой австралийской коллекции узколистного люпина, которая состоит преимущественно из дикорастущих представителей вида (Berger et al., 2013; Vishnyakova et al., 2021). Маркер *iucLi* использовали в селекции люпина узколистного для отбора “сладких” генотипов и для разработки почти изогенных линий для дальнейшей характеристики и точного картирования локуса *iucundus* (Li et al., 2011).

Однако неполное совпадение генотипа маркера *iucLi* и фенотипа ограничило его применение в селекции. Такое несовпадение, являющееся естественным следствием генетической рекомбинации между маркером и геном-мишенью, может произойти, если маркер не является внутригенным.

После открытия гена *RAP2-7*, возможного кандидата на роль гена, располагающегося в локусе *iuc*, был разработан молекулярный маркер, надежность которого была подтверждена на коллекционном материале разного статуса (дикие формы, сорта, селекционный материал). Это dCAPS маркер аллели *iuc\_RAP2-7*, валидация которого была осуществлена на 202 образцах. Так, для образцов с содержанием алкалоидов в семенах  $\geq 0,9\%$  от сухой массы семян было показано наличие диагностического фрагмента длиной 226 пн (генотипы *Iucundus*). В то же время для образцов с содержанием алкалоидов до 0,5% от сухой массы семян был идентифицирован маркерный фрагмент длиной 258 пн (генотипы *iucundus*). Маркер *iuc\_RAP2-7* считают мощным инструментом для быстрого поиска нужных генотипов с помощью маркер-опосредованной селекции (Kroc et al., 2019a). Сегодня маркер-опосредованная селекция люпина узколистного стала интегральной частью селекционных программ в Австралии и ускорила создание новых, в том числе низкоалкалоидных сортов (Li et al., 2011; Rychel et al., 2019). Несомненно, дальнейшая разработка новых молекулярных маркеров, диагностирующих селекционно значимые признаки, позволит перейти к более эффективному и быстрому созданию новых сортов.

К настоящему времени осуществлены две эталонные сборки генома люпина узколистного на основе насыщенных генетических карт, результатов секвенирования транскриптома, данных о синтении с геномами других форм, в том числе модельных бобовых (Gao et al., 2011; Yang et al., 2013; Kamphuis et al., 2015).

Размер гаплоидного генома, установленный с использованием метода проточной цитометрии, составил 924 Мб (Naganowska et al., 2003; Kasprzak et al., 2006).

В первой сборке генома австралийского сорта ‘Tanjil’ было аннотировано 57807 генов люпина. Это больше, чем найдено у других видов бобовых: *Lotus japonicus* (38483), *Medicago truncatula* (47529), *Glycine max* (L.)

Merr. (46430) и *Cajanus cajan* L. (48680). Соответственно, размер генома люпина узколистного 1,153 Гб также больше, чем у *M. truncatula* (475 Мб), *L. japonicus* (472 Мб), *C. cajan* (833 Мб) и *G. max* (950 Мб). Длина сборки последовательностей генома, достигнутая в этом исследовании, составила примерно 52% генома вида (Yang et al., 2013).

Более детальная сборка генома люпина узколистного создана Hane et al. (2017) и размещена на портале генома люпина (URL: <https://lupinexpress.org/>) вместе с другими геномными ресурсами вида. Геном люпина узколистного характеризуется большим количеством повторов (57% генома), причем большая часть этих повторов (32% генома) соответствует известным мобильным элементам — ретротранспозонам с длинными концевыми повторами (28%). Данный класс мобильных элементов является типичным для большинства эукариот.

Геном *L. angustifolius* наряду с аннотированным геномом другого вида, люпина белого (*L. albus* L.) включен в информационную систему бобовых LIS – Legume Information System (URL: <https://legumeinfo.org/>), где можно проследить синтению между геномами других видов бобовых (Dash et al., 2016). Найдено ясное доказательство полногеномной трипликации (WGT) у представителей трибы Genisteae (Bronn) Dumort, к которой принадлежат люпины (Kroc et al., 2014; Hane et al., 2017).

### Стратегия получения “горько-сладких” форм люпина узколистного

Принципиальным положением, позволившим выдвинуть гипотезу о создании “горько-сладких” форм *L. angustifolius*, стало установление места синтеза ХА.

По данным транскриптомного анализа экспрессия *LDC* была самой высокой в листьях, стебле и цветоножках. Промежуточный уровень экспрессии выявлен в корнях, молодых бобах, включая семена, и в спелых бобах, исключая семена. В созревших семенах и цветках экспрессия гена *LDC* не детектирована (Yang et al., 2017). Наряду с *LDC* показана значительно более высокая экспрессия других генов, участвующих в процессе биосинтеза алкалоидов. Так, накопление транскриптов *LaCAO* и *LaAT* было значительно больше в листьях, чем в других тканях (Frick et al., 2018). Эти факты и служат материальной основой той стратегии улучшения культуры, которую наметили три десятилетия назад (Wink, 1993), а именно получение “горько-сладких” форм *L. angustifolius*.

Если биосинтез ХА в самих семенах незначителен или не осуществляется вообще, возможно корректировать процессы транспорта ХА таким образом, чтобы снизить уровни содержания ХА в зерне без ущерба для процессов их биосинтеза, транспорта и содержания в вегетативных органах, что сохранит адаптивность растений, в частности, сдержит атаки насекомых (Wink, 1990; 1994).

Имеющиеся сведения о биосинтезе алкалоидов свидетельствуют о том, что в нем задействованы разные вну-

три- и внеклеточные структуры (компарменты). Это значит, что распознавание транспортеров-кандидатов для изменения процессов распределения и накопления алкалоидов в органах растения потребует высокой степени специфичности, исключая изменение других процессов транспорта в растении, так как последнее является нежелательным. Транспортерами, представляющими наибольший интерес для селекции люпина, будут те, которые участвуют в переносе ХА в зерно из флоэмы, поскольку уровни ХА в надземной ткани и флоэмном соке в идеале должны быть высокими, чтобы сдерживать питание сосущих насекомых (Frick et al., 2018). Внутриклеточные транспортеры, участвующие в процессах транспорта ХА, очевидно должны стать дальнейшими и, возможно, определяющими мишенями для манипулирования описанными процессами.

Фактор, усложняющий использование геномных и транскриптомных ресурсов для воздействия на синтез и транспорт ХА в растении, – значительная подверженность этого процесса влиянию среды. Показано, к примеру, что уровень ХА в семенах одного и того же генотипа в разных условиях может изменяться не менее, чем в два раза, превышая при этом требуемый уровень допустимого содержания алкалоидов (0,02-0,04%). Показано десятикратное превышение этого уровня у сорта, традиционно относимого к “сладким”, – до 2120 мг/кг (0,2%) (Cowling, Tarr, 2004; Reinhard et al., 2006; Romanchuk, Anokhina, 2018). Поэтому метаболомное профилирование является дополнительным ресурсом, который может быть использован для люпина, чтобы обеспечить понимание того, как метаболизм ХА взаимодействует с другими метаболическими путями в растении, особенно при абиотических и биотических стрессах. Это позволило бы понять влияние взаимодействия «генотип × среда» на биосинтез ХА, а также установить или уточнить роль отдельных алкалоидов в адаптации вида к изменяющимся условиям окружающей среды (Romanchuk, Anokhina, 2018).

Уместно отметить, что сопутствующие описанным достижениям протеомные и метаболомные ресурсы люпина узколистного также существуют, но не столь обширны как геномные и транскриптомные (Ramalingam et al., 2015).

### Заключение

Прогресс, достигнутый в последние 20 лет в понимании возможных путей получения сортов люпина узколистного для продовольственных и кормовых целей посредством современных биотехнологий, очевиден. Предполагаемое создание форм растений, отсутствующих в природе – с высоким содержанием алкалоидов в вегетативной массе и низким в семенах – возможно скоро перестанет быть объектом научных фантазий. Созданы насыщенные молекулярно-генетические карты вида, в которые интегрирован основной локус, свя-

занный с содержанием алкалоидов в растении – ius, а также разработаны молекулярные маркеры, ассоциированные с этим признаком. Выявлен кандидат для гена, предположительно расположенного в этом локусе, *RAP2-7*, кодирующий транскрипционный фактор и определяющий низкоалкалоидный фенотип у люпина узколистного. Достигнуты успехи в выяснении путей биосинтеза алкалоидов у модельных видов и начальных его этапов у люпина узколистного. На очереди распознавание транспортеров и их генов для определения тактики изменения процессов транспорта ХА в тканях растения. Наблюдаемый прогресс в развитии геномных, транскриптомных и метаболомных технологий применительно к люпину узколистному позволяет думать, что в недалеком будущем будут найдены недостающие звенья в имеющихся знаниях о молекулярно-генетических факторах синтеза, транспорта ХА и их регуляции, что позволит определить гены-мишени для редактирования генома, например, посредством применения CRISPR/Cas9 технологии.

## Литература/References

- Adhikari K., Edwards O., Wang S., Ridsdill-Smith T., Buirchell B. The role of alkaloids in conferring aphid resistance in yellow lupin (*Lupinus luteus* L.). *Crop and Pasture Science*. 2012;63:444-451. DOI: 10.1071/CP12189
- Allen J. Toxins and lupinosis. In: Gladstones J.S., Atkin C.A., Hamblin J. (eds.). *Lupins as crop plants: biology, production and utilization*. CAB International; 1998. p.411-428.
- Beaudoin G., Facchini P. Benzylisoquinoline alkaloid biosynthesis in opium poppy. *Planta*. 2014;240(1):19-32. DOI: 10.1007/s00425-014-2056-8.
- Berger J.D., Clements J.C., Nelson M.N., Kamphuis L.G., Singh K.B., Buirchell B. The essential role of genetic resources in narrow-leaved lupin improvement. *Crop and Pasture Science*. 2013;64:361373. DOI: 10.1071/CP13092.
- Berlandier F. Alkaloid level in narrow-leaved lupin, *Lupinus angustifolius*, influences green peach aphid reproductive performance. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 1996;79:19-24. DOI: 10.1111/j.1570-7458.1996.tb00804.x
- Blaschek W., Ebel S., Hilgenfeldt U., Holzgrabe U., Reichling J., Schulz V., Barthlott W., Höltje H.-D. Hagers Enzyklopädie der Arzneistoffe und Drogen. 2016. [In German]. Available from: <http://www.drugbase.de/de/datenbanken/hagers-enzyklopaedie.html> [accessed January 23, 2021].
- Bunsupa S., Katayama K., Ikeura E., Oikawa A., Toyooka K., Saito K., Yamazaki M. Lysine decarboxylase catalyzes the first step of quinolizidine alkaloid biosynthesis and coevolved with alkaloid production in Leguminosae. *Plant Cell*. 2012a;24:1202-1216. DOI: 10.1105/tpc.112.095885
- Bunsupa S., Yamazaki M., Saito K. Quinolizidine alkaloid biosynthesis: recent advances and future prospects. *Frontiers in Plant Science*. 2012b;3:239. DOI: 10.3389/fpls.2012.00239
- Cárdenas P., Sonawane P., Pollier J., Bossche R.V., Dewangan V., Weithorn E., Tal L., Meir S., Rogachev I., Malitsky S., Giri A., Goossens A., Burdman S., Aharoni A. GAME9 regulates the biosynthesis of steroidal alkaloids and upstream isoprenoids in the plant mevalonate pathway. *Nature Communications*. 2016;7:10654. DOI: 10.1038/ncomms10654
- Czepiel K., Krajewski P., Wilczura P., Bielecka P., Świącicki W., Kroc M. Expression profiles of alkaloid-related genes across the organs of narrow-leaved lupin (*Lupinus angustifolius* L.) and in response to anthracnose infection. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(5):2676. DOI: 10.3390/ijms22052676
- Cowling W., Tarr A. Effect of genotype and environment on seed quality in sweet narrow-leaved lupin (*Lupinus angustifolius* L.). *Australian Journal of Agricultural Research*. 2004;55(7):745-751. DOI: 10.1071/AR03223
- Dash S., Campbell J.D., Cannon E.K., Cleary A.M., Huang W., Kalberer S.R., Karingula V., Rice A.G., Singh J., Umale P.E., Weeks N.T., Wilkey A.P., Farmer A.D., Cannon S.B. Legume information system (LegumeInfo.org): a key component of a set of federated data resources for the legume family. *Nucleic Acids Research*. 2016;44(D1):D1181-D1188. DOI: 10.1093/nar/gkv1159
- Dewey R., Xie J. Molecular genetics of alkaloid biosynthesis in *Nicotiana tabacum*. *Phytochemistry*. 2013;94:10-27. DOI: 10.1016/j.phytochem.2013.06.002
- Dijkstra D., Linnemann A., van Boekel T. Towards sustainable production of protein-rich foods: appraisal of eight crops for Western Europe. Part II: Analysis of the technological aspects of the production chain. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2003;43(5):481-506. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.09.088
- Facchini P., St-Pierre B. Synthesis and trafficking of alkaloid biosynthetic enzymes. *Current Opinion in Plant Biology*. 2005;8(6):657-666. DOI: 10.1016/j.pbi.2005.09.008
- Fischer K., Dieterich R., Nelson M., Kamphuis L., Singh K., Rotter B., Krezdorn N., Winter P., Wehling P., Ruge-Wehling B. Characterization and mapping of LanrBo: A locus conferring anthracnose resistance in narrow-leaved lupin (*Lupinus angustifolius* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 2015;128:2121-2130. DOI: 10.1007/s00122-015-2572-3
- Frick K., Kamphuis L., Siddique K., Singh K., Foley R. Quinolizidine alkaloid biosynthesis in lupins and prospects for grain quality improvement. *Frontiers in Plant Science*. 2017;8:1-12. DOI: 10.3389/fpls.2017.00087
- Frick K., Foley R., Kamphuis L.G., Siddiqui K., Gar G., Singh K.B. Characterization of the genetic factors affecting quinolizidine alkaloid biosynthesis and its response to abiotic stress in narrow-leaved lupin (*Lupinus angustifolius* L.). *Plant, Cell and Environment*. 2018;41:2155-2168. DOI: 10.1111/pce.13172
- Gao L.-L., Hane J., Kamphuis L., Foley R., Shi B.-J., Atkins C.A., Singh K. Development of genomic resources for the narrow-leaved lupin (*Lupinus angustifolius*): construction of a bacterial artificial chromosome (bac) library and bac-end sequencing. *BMC Genomics*. 2011;12:521. DOI: 10.1186/1471-2164-12-521
- Gladstones J.S. Lupins as crop plants. *Field Crop Abstracts*. 1970;23:123-148.
- Gustafsson A., Gadd I. Mutations and crop improvement. II. The genus *Lupinus* (Leguminosae). *Hereditas*. 1965;53:15-39. DOI: 10.1111/j.1601-5223.1965.tb01977.x
- Hagel J.M., Facchini P.J. Benzylisoquinoline alkaloid metabolism: A century of discovery and a brave New World. *Plant and Cell Physiology*. 2013;54(5):647-672. DOI: 10.1093/pcp/pct020
- Hane J.K., Ming Y., Kamphuis L.G., Nelson M.N., Garg G., Atkins C.A., Bayer P.E., Bravo A., Bringans S., Cannon S., Edwards D., Foley R., Gao L.L., Harrison M.J., Huang W., Hurgobin B., Li S., Liu C.W., McGrath A., Morahan G., Murray J., Weller J., Jian J., Singh K.B. A comprehensive draft genome sequence for lupin (*Lupinus angustifolius*), an emerging health food: insights into plant-microbe interactions and legume evolution. *Plant Biotechnology Journal*. 2017;15:318-330. DOI: 10.1111/pbi.12615
- Hirai M.Y., Suzuki H., Yamazaki M., Saito K. Biochemical and partial molecular characterization of bitter and sweet forms of *Lupinus angustifolius*, an experimental model for study of molecular regulation of quinolizidine alkaloid biosynthesis. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*. 2000;48:1458-1461. DOI: 10.1248/cpb.48.1458
- Kamel K.A., Świącicki W., Kaczmarek Z., Barzyk P. Quantitative and qualitative content of alkaloids in seeds of a narrow-leaved lupin (*Lupinus angustifolius* L.) collection. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2015;63:711-719. DOI: 10.1007/s10722-015-0278-7
- Kamphuis L.G., Hane J.K., Nelson M.N., Gao L., Atkins C.A., Singh K.B. Transcriptome sequencing of different narrow-leaved lupin tissue types provides a comprehensive uni-gene assembly and extensive gene-based molecular markers. *Plant Biotechnology Journal*. 2015;3:14-25. DOI: 10.1111/pbi.12229
- Kamphuis L.G., Garg G., Foley R., Singh K.B. Genomic resources for lupins are coming of age. *Legume Science. Special Issue*.



- 2021;3(3):e77. DOI: 10.1002/leg3.77
- Kasprzak A., Safar J., Janda J., Dolezel J., Wolko B., Naganowska B. Bacterial artificial chromosome (BAC) library of the narrow-leaved lupin (*Lupinus angustifolius* L.). *Cellular and Molecular Biology Letters*. 2006;11:396-407. DOI: 10.2478/s11658-006-0033-3
- Kroc M., Koczyk G., Święcicki W., Kilian A., Nelson M. New evidence of ancestral polyploidy in the Genistoid legume *Lupinus angustifolius* L. (narrow-leaved lupin). *Theoretical and Applied Genetics*. 2014;127:1237-1249. DOI: 10.1007/s00122-014-2294-y
- Kroc M., Czepiel K., Wilczura P., Mokrzycka M., Święcicki W. Development and validation of a gene-targeted dCAPS marker for marker-assisted selection of low-alkaloid content in seeds of narrow-leaved lupin (*Lupinus angustifolius* L.). *Genes*. 2019a;10:428. DOI: 10.3390/genes10060428
- Kroc M., Koczyk G., Kamel K.A., Czepiel K., Fedorowicz-Strońska O., Krajewski P., Kosińska J., Podkowiński J., Wilczura P., Święcicki W. Transcriptome-derived investigation of biosynthesis of quinolizidine alkaloids in narrow-leaved lupin (*Lupinus angustifolius* L.) highlights candidate genes linked to iucundus locus. *Scientific Reports*. 2019b;9:2231. DOI: 10.1038/s41598-018-37701-5
- Kushnareva A.V., Shelenga T.V., Perchuk I.N., Egorova G.P., Malyshev L.L., Kerv Yu.A., Shavarda A.L., Vishnyakova M.A. Selection of an optimal method or screening the collection of narrow-leaved lupine held by the Vavilov Institute for the qualitative and quantitative composition of seed alkaloids. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2020;24(8):829-835. DOI: 10.18699/VJ20.680
- Lee M.J., Pate J.S., Harris D.J., Atkins C.A. Synthesis, transport and accumulation of quinolizidine alkaloids in *Lupinus albus* L. and *L. angustifolius* L. *Journal of Experimental Botany*. 2007;58:935-946. DOI: 10.1093/jxb/erl254
- Li X., Yang H., Buirchel B., Yan G. Development of a DNA marker tightly linked to low-alkaloid gene *iucundus* in narrow-leaved lupin (*Lupinus angustifolius* L.) for marker-assisted selection. *Crop and Pasture Science*. 2011;62:218-224. DOI: 10.1071/CP10352
- Linnemann A.R., Dijkstra D.S. Toward sustainable production of protein-rich foods: appraisal of eight crops for Western Europe. Part I. Analysis of the primary links of the production chain. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2002;42:377-401. DOI: 10.1080/20024091054193
- Memelink J., Verpoorte R., Kijne J.W. ORCAnization of jasmonate-responsive gene expression in alkaloid metabolism. *Trends in Plant Science*. 2001;6(5):212-219. DOI: 10.1016/s1360-1385(01)01924-0
- Naganowska B., Wolko B., Sliwiska E., Kaczmarek Z. Nuclear DNA content variation and species relationships in the genus *Lupinus* (Fabaceae). *Annals of Botany*. 2003;92: 349-355. DOI: 10.1093/aob/mcgl45
- Nelson M.N., Phan H.T., Ellwood S.R., Moolhuijzen P.M., Hane J., Williams A., O'Lone C.E., Fosu-Nyarko J., Scobie M., Cakir M., Jones M., Bellgard M., Książkiewicz M., Wolko B., Barker S.J., Oliver R.P., Cowling W.A. The first gene-based map of *Lupinus angustifolius* L. – location of domestication genes and conserved synteny with *Medicago truncatula*. *Theoretical and Applied Genetics*. 2006;113:225-238. DOI: 10.1007/s00122-006-0288-0
- Nelson M.N., Moolhuijzen P.M., Boersma J.G., Chudy M., Lesniewska K., Bellgard M., Oliver R.P., Święcicki W., Wolko B., Cowling W., Ellwood S.R. Aligning a new reference genetic map of *Lupinus angustifolius* with the genome sequence of the model legume, *Lotus japonicus*. *DNA Research*. 2010;17:73-83. DOI: 10.1093/dnares/dsq001
- Plewiński P., Książkiewicz M., Rychel-Bielska S., Rudy E., Wolko B. Candidate domestication-related genes revealed by expression quantitative trait loci mapping of narrow-leaved lupin (*Lupinus angustifolius* L.). *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(22):5670. DOI: 10.3390/ijms20225670
- Prusiński J. Postęp biologiczny w łubinie (*Lupinus* sp.) – rys historyczny i stan aktualny. *Zesz Probl Post Nauk Roln*. 2007;522:23-37. [in Polish]
- Rai V, Tandon PK, Khatoon S. Effect of chromium on antioxidant potential of *Catharanthus roseus* varieties and production of their anticancer alkaloids: vincristine and vinblastine. *BioMed Research International*. 2014;2014:934182. DOI: 10.1155/2014/934182
- Ramalingam A., Kudapa H., Pazhamala L.T., Weckwerth W., Varshney R.K. Proteomics and metabolomics: two emerging areas for legume improvement. *Frontiers in Plant Science*. 2015;6:1116. DOI: 10.3389/fpls.2015.01116
- Reinhard H., Rupp H., Sager F., Streule M., Zoller O. Quinolizidine alkaloids and phomopsins in lupin seeds and lupin containing food. *Journal of chromatography A*. 2006;1112:353-360. DOI: 10.1016/j.chroma.2005.11.079
- Rychel S., Książkiewicz M. Development of gene-based molecular markers tagging low alkaloid pauper locus in white lupin (*Lupinus albus* L.). *Journal of Applied Genetics*. 2019;60(3-4):269-281. DOI: 10.1007/s13353-019-00508-9
- Romanchuk I.Yu., Anokhina V.S. Lupine alkaloids: structure, biosynthesis, genetics. *Molekulyarnaya i Prikladnaya Genetika = Molecular and Applied Genetics*. 2018;25:108-123. [in Russian] (Романчук И.Ю., Анохина В.С. Алкалоиды люпина: строение, биосинтез, генетика. *Молекулярная и прикладная генетика*. 2018;25:108-123).
- Sengbusch R. Die Entstehungsgeschichte einiger neuer Kulturpflanzen. *Landwirtschaftliche Jahrbücher*. 1942;91:719-880. [In German]
- Vishnyakova M.A., Kushnareva A.V., Shelenga T.V., Egorova G.P. Alkaloids of narrow-leaved lupine as a factor determining alternative ways of the crop's utilization and breeding. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2020;24(6):625-635. DOI: 10.18699/VJ20.656
- Vishnyakova M.A., Vlasova E.V., Egorova G.P. Genetic resources of narrow-leaved lupine (*Lupinus angustifolius* L.) and their role in its domestication and breeding. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2021;25(6):620-630. DOI: 10.18699/VJ21.070
- Wang S., Liu A., Ridsdill-Smith T., Ghisalberti E. Role of alkaloids in resistance of yellow lupin to red-legged earth mite *Halotydeus destructor*. *Journal of Chemical Ecology*. 2000;26:429-441. DOI: 10.1023/A:1005413606680
- Wink M. Plant breeding: low or high alkaloid content. In: *Proceedings of the 6th International Lupin Conference; 1990 November 25-30; Temuco-Pucón, Chile*. 1990. p.326-334.
- Wink M. Allelochemical properties or the raison d'être of alkaloids. In: Geoffrey A. Cordell (ed.). *The Alkaloids*. San Diego: Acad. Press; 1993. Vol. 43. p.1-118.
- Wink M. Biological activities and potential application of lupin alkaloids. In: J.M. Neves-Martins, M.L. Beirao da Costa (eds.) *Advances in Lupin Research*. Lisbon: ISA Press; 1994. p.161-178.
- Wink M., Meißner C., Witte L. Patterns of quinolizidine alkaloids in 56 species of the genus *Lupinus*. *Phytochemistry*. 1995;38:139-153.
- Yang H., Tao Y., Zheng Z., Zhang Q., Zhou G., Sweetingham M.W., Howieson J.G., Li C. Draft genome sequence, and a sequence-defined genetic linkage map of the legume crop species *Lupinus angustifolius* L. *PLoS One*. 2013;8(5):e64799. DOI: 10.1371/journal.pone.0064799
- Yang T., Nagy I., Mancinotti D., Otterbach S.L., Andersen T.B., Motawia M.S., Asp T., Geu-Flores F. Transcript profiling of a bitter variety of narrow-leaved lupin to discover alkaloid biosynthetic genes. *Journal of Experimental Botany*. 2017;68:5527-5537. DOI: 10.1093/jxb/erx362
- Zachow F. Ein neues gen für alkaloidarmut bei *Lupinus angustifolius*. *Der Züchter*. 1967;37:35-38. doi: 10.1007/BF00621153. [In German]
- Zhou G.F., Jian J.B., Wang P.H., Li C.D., Tao Y., Li X., Renshaw D., Clements J., Sweetingham M., Yang H. Construction of an ultra-high density consensus genetic map, and enhancement of the physical map from genome sequencing in *Lupinus angustifolius*. *Theoretical and Applied Genetics*. 2018;131,209-223. doi: 10.1007/s00122-017-2997-y
- Zhu H., Choi H.K., Cook D.R., Shoemaker R.C. Bridging model and crop legumes through comparative genomics. *Plant Physiology*. 2005;137(4):1189-1196. DOI: 10.1104/pp.104.058891

---

### *Информация об авторах*

**Маргарита Афанасьевна Вишнякова**, доктор биологических наук, главный научный сотрудник, заведующая отделом генетических ресурсов зернобобовых ВИР, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44, m.vishnyakova.vir@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2808-7745>

**Екатерина Александровна Крылова**, научный сотрудник, лаборатория постгеномных исследований, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44, e.krylova@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4917-6862>

### *Information about the authors*

**Margarita A. Vishnyakova**, Dr. Sci. (Biology), Chief Scientific Researcher, Head, Grain Legumes Genetic Resources Department, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, m.vishnyakova.vir@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2808-7745>

**Ekaterina A. Krylova**, Scientific Researcher, Laboratory of Postgenomic Research, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, e.krylova@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4917-6862>

**Вклад авторов:** все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

**Contribution of the authors:** the authors contributed equally to this article.

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interests:** the authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 05.04.2022; одобрена после рецензирования 26.05.2022; принята к публикации 16.06.2022  
The article was submitted 05.04.2022; approved after reviewing 26.05.2022; accepted for publication on 16.06.2022.