

Разработка тест-системы для определения аллельных вариантов локусов, отвечающих за окраску луковиц *Allium* сера L.

Научный руководитель – Усатов Александр Вячеславович

Митюков В.Д.¹, Стручкова А.В.²

1 - Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Дмитрия Иосифовича Ивановского, Кафедра генетики, Ростов-на-Дону, Россия, *E-mail: vd.mityukov@yandex.com*; 2 - Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Дмитрия Иосифовича Ивановского, Кафедра генетики, Ростов-на-Дону, Россия, *E-mail: vd.mityukov@yandex.com*

Окраска луковиц у *Allium* сера L. контролируется пятью локусами (I, C, G, R и L), в результате сложного эпистаза проявляются различные варианты красной, желтой и белой окраски. На данный момент науке точно не известны все гены-кандидаты, отвечающие за различные проявления окраски, а также их аллельные варианты [1]. Так, например, локусы R и L отвечают за проявление различных вариантов красной окраски, доминантный генотип RRLl отвечает за красную окраску, рецессивный rrll отвечает за желтую, различные варианты гетерозигот отвечают за различные варианты розовой.

Одной из проблем в селекции, как красного, так и желтого лука является появление при гибридизации в потомстве розового лука. Это затрудняет получение селекционных линий, а также в случае линий желтого лука, негативно отражается на продаже готовых луковиц, так как невозможно по внешним признакам определить внутреннюю окраску луковицы [1]. Существует потребность со стороны селекционеров России и всего мира в тест-системе, определяющей аллельные варианты локусов, отвечающих за окраску лука репчатого для массового генотипирования.

В связи с этим, целью данной работы являлась разработка тест-системы для определения локусов, отвечающих за окраску луковиц.

Объектом исследования служили отечественные селекционные линии лука репчатого с различными окрасками луковиц: красного, розового, желтого и белого. ДНК выделяли согласно инструкции с помощью коммерческого набора DNeasy Plant mini (Qiagen, США). Для ПЦР использовали набор ScreenMix HS, а для ПЦР в режиме реального времени - qPCRMixSYBR HS (Евроген, Россия). Полученные ПЦР продукты разделяли в 1.5% агарозном геле.

Изменение цвета луковиц связано с мутациями в структурных генах пути биосинтеза флавоноидов. В ходе данной работы мы сравнили эффективность ДНК-маркеров на различные гены этого пути: *DFR*, *ANS* и *F3H*, а так же маркеров, которые заявлены как связанные с локусами I, C и G. Мы исследовали различные варианты маркеров InDel, CAPS и HRM доступные на данный момент. В результате исследования все маркеры на локусы I и C показали доминантный генотип во всех контрольных образцах, что теоретически невозможно. Поэтому нам не удалось включить в тест-систему маркеры для определения белой окраски.

Напротив, маркеры на локусы R (ген *DFR*) и L (ген *ANS*) показали различные результаты. Наиболее эффективными показали себя маркеры HRM-DFR и HRM-ANS. Они показали точность 94 и 93% соответственно. Наименее эффективными оказались маркеры ANS-h и DFR-D, точность 64 и 62% соответственно.

Интересно отметить, что в ходе апробации различных маркеров локуса R на отечественных линиях лука нами был обнаружен новый, ранее не охарактеризованный аллельный вариант гена *DFR*.

Нами предлагается использование маркеров HRM-DFR и HRM-ANS, как маркеров для массового генотипирования растений, так как они показали наиболее точные результаты при наименьших временных затратах.

Источники и литература

- 1) Khandagale K., Gawande S. Genetics of bulb colour variation and flavonoids in onion //The Journal of Horticultural Science and Biotechnology. – 2019. – Т. 94. – №. 4. – С. 522-532.