

Сравнительный анализ эффективности ДНК-маркеров локуса Ms, контролирующего восстановление фертильности пыльцы у лука репчатого (*Allium cepa* L.)

Научный руководитель – Усатов Александр Вячеславович

Шлык А.Е.¹, Неуров А.М.², Фаддеева Е.А.³

1 - Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Дмитрия Иосифовича Ивановского, Кафедра генетики, Ростов-на-Дону, Россия, *E-mail: shlyk.nastya@inbox.ru*; 2 - Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Дмитрия Иосифовича Ивановского, Кафедра генетики, Ростов-на-Дону, Россия, *E-mail: shlyk.nastya@inbox.ru*; 3 - Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Дмитрия Иосифовича Ивановского, Кафедра генетики, Ростов-на-Дону, Россия, *E-mail: shlyk.nastya@inbox.ru*

Лук - широко используемая культура; кроме того, это двулетнее растение, что делает процесс селекции более сложным и трудоемким. Тем не менее, маркерная селекция с использованием ЦМС линий позволяет решить эту проблему, но для ее использования важно не только определение типов ЦМС, но также и аллельных вариантов генов-восстановителей [1]. Кроме того, большинство разработанных маркеров малоэффективны или требуют много времени и ресурсов, что делает их неприменимыми в процессе массового генотипирования растений. Основная селекция на луке ведется с использованием ЦМС S типа. Ms локус восстанавливает данный тип цитоплазмы, и на данный момент существует множество ДНК-маркеров для определения его аллельных вариантов [2].

Поэтому целью данной работы являлось определение наиболее эффективных ДНК-маркеров локуса Ms, для дальнейшего их использования в массовом генотипировании отечественных сортов и гибридов лука репчатого.

Материалом исследования служили отечественные сорта и гибриды лука репчатого. Для исследования эффективности ДНК-маркеров локуса Ms как контроли использовали 18 селекционных линий с заранее известным генотипом. ДНК выделяли из сочной чешуи 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). Для CAPS маркеров обработку ферментами рестрикции производили согласно инструкции. ПЦР продукты разделяли в 1.5% агарозном геле.

В ходе исследования нами были проанализированы следующие маркеры InDel: PMS1, SKP1, AcCN, OPT, PsaO, RF 15334, RF 28184, RF 31446, jnurf 13; CAPS: RF 23881, RF 25191, RF 26780; Realtime: HRM1, HRM5, HRM7, HRM8. В результате было обнаружено, что маркеры HRM1 и HRM2 во всех образцах показывали генотип MsMs, а RF 25191 - генотип msms. В ходе амплификации маркеров RF 26780 и RF 28184 отсутствовал специфический продукт реакции. Наиболее низкую эффективность показали маркеры RF 26780, OPT и PsaO - 75, 64 и 60% соответственно.

Интересно отметить тот факт, что маркеры AcCN и SKP1, состоящие из 4 праймеров, показали эффективность 80%, а если реакцию на каждую аллель проводить индивидуально, то эффективность повышалась до 90 и 95%, соответственно.

В результате наиболее эффективными оказались маркеры PMS, HRM7, RF 23881, RF 25191, jnurf 13, они показали точность более 94%. Так как маркер jnurf 13 требует очень трудоемкого разделения в полиакриламидном геле, а маркеры RF 23881, RF 25191 требуют пост-амплификационной обработки рестриктазами, что значительно увеличивает время на получение результата генотипирования. Поэтому нами предлагается использование двух маркеров PMS1 и HRM7 для массового генотипирования растений лука репчатого.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания в области научной деятельности № 0852-2020-0029.

Источники и литература

- 1) Khosa J. S. et al. Enhancing onion breeding using molecular tools // Plant Breeding. – 2016. – Vol. 135. – №. 1. – P. 9-20.
- 2) Yu N., Kim S. Identification of Ms2, a novel locus controlling male-fertility restoration of cytoplasmic male-sterility in onion (*Allium cepa* L.), and development of tightly linked molecular markers // Euphytica. – 2021. – Vol. 217. – №. 10. – P. 1-11.