

## Разработка тест-системы для определения типов цитоплазматической стерильности у лука репчатого (*Allium cepa* L.)

Научный руководитель – Усатов Александр Вячеславович

Махжамов А.Ш.<sup>1</sup>, Головинов И.В.<sup>2</sup>

1 - Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Дмитрия Иосифовича Ивановского, Кафедра генетики, Ростов-на-Дону, Россия, E-mail: [makhkamovrasul@yandex.ru](mailto:makhkamovrasul@yandex.ru); 2 - Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Дмитрия Иосифовича Ивановского, Кафедра генетики, Ростов-на-Дону, Россия, E-mail: [ivgolovinov@yandex.ru](mailto:ivgolovinov@yandex.ru)

Для расширения агропроизводства и удовлетворения растущих потребностей населения необходимо быстрое и качественное создание новых сортов и гибридов. Внедрение методов молекулярной генетики в селекцию позволяет сократить расходы и значительно ускорить этот процесс. Для этого прежде всего необходимы хорошо изученные две генетические системы - цитоплазматическая мужская стерильность (ЦМС) и гены восстановители фертильности пыльцы (Rf). Комбинированное использование этих систем позволяет сократить время селекции двухлетней культуры лука репчатого с 6 до 3 лет.

На данный момент практически отсутствуют данные о точности маркерных систем, определяющих типы ЦМС и аллельные варианты генов Rf, но при этом существует запрос на новые точные тест-системы от селекционеров в России и во всем мире, поэтому целью данной работы служила разработка наиболее эффективной тест-системы для определения типов ЦМС у лука.

Материалом исследования послужили 18 отечественных селекционных линий, которые включали полусладкие, полуострые гибриды лука репчатого. Растения выращивали в фитотроне, при 16-часовом световом дне и температуре 26°C. Стерильные и фертильные линий использовали как контроли для проверки эффективности тест-систем. ДНК выделяли из молодых листьев, 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). ПЦР продукты разделяли в 1.5% агарозном геле.

Нами были проанализированы следующие маркеры: *cob*, *orfA501*, *orf725* и *IGS* [1]. В результате наиболее эффективными оказались маркеры *cob* и *orfA501*, они показали точность в 97%. При этом маркер *IGS* не давал специфичного продукта реакции, а маркер *orf725*, напротив, показал точность 75%.

Для получения результата генотипирования всех маркеров, использованных в этом исследовании, требуется проведение электрофореза в агарозном геле, но нам удалось модифицировать тест-систему *cob* и *orfA501* с использованием возможностей ПЦР в режиме реального времени - кривых плавления. На рисунке 1 представлены пики плавления маркера *cob*. Пик на 82,5°C показывает S тип цитоплазмы, пик правее показывает N либо T тип, для дальнейшей идентификации используется маркер *orfA501*, который маркирует S и T тип цитоплазмы (пик на 85°C).

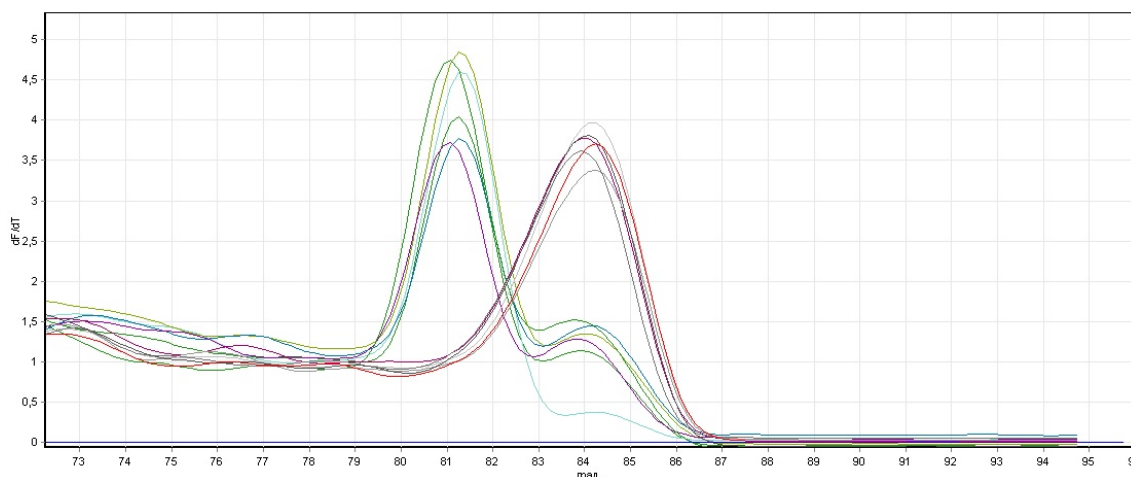
Нами предлагается использование данной системы из двух маркеров для массового генотипирования растений лука репчатого.

В дальнейшем планируется определение последовательности митохондриального генома лука трех типов цитоплазмы, с целью создания мультиплекс ПЦР для определения типа ЦМС у лука.

Источники и литература

- 1) Gazendam I., Greyling M. M., Laurie S. M. The Application of Molecular Markers to Accelerate the Recovery of Cytoplasmic and Nuclear Male Sterility in South African Onion (*Allium cepa* L.) Hybrid Parental Lines // Journal of Agricultural Science. – 2018 – Т. 10 – №. 7

### Иллюстрации



**Рис. 1.** Нормализованные кривые плавления для маркера sob, левые пики - S тип, правые - N/T, получены с помощью Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия)