

Набор SSR-маркеров для использования в маркер-опосредованной селекции капусты белокочанной (*Brassica oleracea* var. *capitata*)

П.Ю. Крупин*, А.Г. Черноок, С.А. Бурсаков, М.В. Климушина, М.А. Самарина, С.М. Авдеев, М.Г. Дивашук

Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия

* pavel-krupin@yandex.ru

Цель: Сформировать набор SSR маркеров, пригодных для применения в маркер-опосредованной селекции, оценки уровня гибридности и паспортизации капусты белокочанной.

Материалы и методы: В работе использовались 47 гибридов капусты белокочанной и 5 перспективных селекционных образцов, относящихся к разным группам спелости: 19 средне-поздних, 1 средних, 27 поздних. Семена проращивались в чашках Петри при +20 °С, предварительно проводили обработку семян в растворе фитоспорина 1 час. Проведена оптимизация массового выделения ДНК капусты белокочанной, подобраны оптимальные количества растительной ткани и реагентов для выделения. ДНК выделяли из проростков на 10-е сутки после посева семян при помощи роботизированной станции выделения ДНК Auto-Pure 96 и набора «МагноПрайм® ГМО». Проростки измельчали при помощи металлических шариков диаметром 3 мм на гомогенизаторе TissueLyser II. Качество выделенной ДНК определяли при помощи спектрофотометрии на приборе Nano Drop One C. Проведена работа с литературой и собраны данные о существующих на данный момент микросателлитных маркерах капусты белокочанной, создана актуальная база данных маркеров, всего в базу вошло 182 SSR маркера.

Результаты: Проведена оптимизация протокола массового выделения ДНК капусты белокочанной для роботизированной станции. Полученная высокомолекулярная ДНК капусты белокочанной 52 образцов имеет высокие показатели качества и концентрации, и является пригодной для генетических анализов с помощью рутинной ПЦР для генотипирования с помощью классических маркеров, количественной ПЦР в реальном времени для генотипирования с помощью KASP-маркеров, фрагментного анализа с использованием SSR-маркеров и секвенирования. По литературным данным, выбранные нами микросателлитные маркеры были сцеплены с одиннадцатью хозяйственно ценными признаками капусты белокочанной. Из всего массива маркеров 34% сцеплены с устойчивостью к инфекционным болезням, 3% – с устойчивостью к вредителям, по 6% – с товарными признаками и мужской стерильностью (ЦМС), 20% составили маркеры для оценки генетического разнообразия и 28% – маркеры для оценки комбинационной способности. С помощью биоинформатических подходов проводится анализ набора молекулярных маркеров для выбора оптимального-минимального количества SSR маркеров, необходимых для определения уровня гибридности гетерозисных гибридов F₁ и пригодных для паспортизации у этой культуры.

Выводы: Систематизированы данные о маркерах, которые можно применять в маркер-опосредованной селекции капусты белокочанной на значимые хозяйственно ценные признаки, для оценки уровня гибридности при создании гетерозисных гибридов и паспортизации для защиты авторских прав селекционеров и повышения качества семеноводства. Общий объем собранных SSR и других систем маркеров капусты белокочанной составляет 304 генетических маркера.

Финансирование: Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, государственное задание FGUM-2024-0006.