

Вариации гена *BTC1*, контролирующего время цветения сахарной свёклы

А.А. Налбандян^{1*}, Т.С. Руденко¹, Т.П. Федулова¹, И.В. Черепухина¹, Ю.В. Капак², В.Н. Мищенко²

¹ ФГБНУ «ВНИИСС им. А.Л. Мазлумова», Воронежская область, п. ВНИИСС, Россия

² ФГБНУ Первомайская СОС, Краснодарский край, Гулькевичи, Россия

* arpnal@rambler.ru

Цель: Изучение молекулярных вариаций гена *BTC1*. Выявление кандидатных SNP-маркеров, ведущих к изменениям функций гена.

Материалы и методы: В данном исследовании использованы растения 8 отечественных селекционно-ценных генотипов сахарной свёклы, отобранных на провокационном фоне (Первомайская СОС). Для проведения молекулярно-генетических экспериментов использовали зеленую массу сахарной свёклы. Тотальную ДНК выделяли СТАВ-методом. Классическую ПЦР проводили с использованием пары специфических маркеров F99/R99, сконструированной в программе Primer-Blast. В результате тестирования 8 селекционно-ценных образцов сахарной свёклы методом классической ПЦР с использованием данной пары праймеров у всех генотипов выявлен один ампликон размером около 800 п.н., что соответствует ожидаемой длине отрезка ДНК, который фланкируется данными олигонуклеотидами. Полученные ампликоны были проанализированы на генетическом анализаторе ГТЗ (Китай) по Сэнгеру.

Результаты: Среди генотипов, в которых обнаружен ожидаемый ПЦР-продукт, присутствуют как цветущие, так и нецветущие растения, так как ген *BTC1*, контролирующий работу двух генов цветения (*BvFT1* и *BvFT2*) характерен для всех геномов рода *Beta*. Аллель *BTC1* присущ однолетним генотипам, а аллель *btc1* – двулетним. Результаты прочтения нуклеотидных последовательностей экзона 9 гена *BTC1* проанализированы в программе Geneious Prime (<https://www.geneious.com/prime/>). Сравнение нуклеотидных последовательностей рассмотренных генотипов с контрольной линией (GenBank № HQ709091.1 NCBI), устойчивой к цветущности, с двулетним циклом развития, выявило несколько SNP, характерных для цветущих генотипов. Так, в позиции 476 (по программе Geneious Prime) идентифицирована однонуклеотидная замена С/Т, в позиции 542 выявлена замена G/A. Примечательно, что и у контрольного устойчивого генотипа (GenBank № HQ709091.1 NCBI), и у генотипа под номером 2, который позиционируется также как устойчивая форма, обнаружены в одинаковых позициях идентичные нуклеотиды. Генотип под номером 1, охарактеризованный селекционерами как цветущий, в данных позициях как раз содержит замены (Т и А соответственно). Ниже приведен фрагмент аминокислотной последовательности белка гена *BTC1*, кодируемой экзоном 9, красным отмечены аминокислоты (изначальные и замещенные вследствие однонуклеотидного полиморфизма):

а) ...PQENNVDQQL KIQRHHHHYHN YDVHVSQQLP KVSQVQHNM**SK** SKDVTAPPQC GSSNTRSP

KANVANCSLN GSGSGSNHGS NFLNGSSAAV NVEGTNMVND SRIAAKDGAЕ NGSGSGSGSG
SGSGVGVDQS RSAQREAAALN KFRLKRKERC FDKK

б) ...PQENNVDQQL KIQRHHHHYHN YDVHVSQQLP KVSQVQHNM**PK** SKDVTAPPQC GSSNTRSP
EANVANCSLN GSGSGSNHGS NFLNGSSAAV NVEGTNMVND SRIAAKDGAЕ NGSGSGSGSG
SGSGVGVDQS RSAQREAAALN KFRLKRKERC FDKK

Из приведенной выше дедуктивной аминокислотной последовательности видно, что однонуклеотидная замена С/Т в позиции 476 привела к замещению аминокислоты лизин (к) глутаминовой кислотой (е). SNP G/A в позиции 542 способствовала замене аминокислоты серин (s) на пролин (p). Данные однонуклеотидные полиморфизмы, следовательно, являются смысловыми (nonsynonymous), способствующие замене аминокислот в полипептидной цепи.

Выводы: В результате проведенного молекулярно-генетического анализа выяснилось, что в геноме исследованных генотипов содержится полноценный ген *BTC1*, контролирующий работу двух генов-кандидатов цветущности: *FT1* и *FT2*. Результаты секвенирования и выравнивания в экзоне 9 гена *BTC1* четырех селекционных номеров сахарной свёклы (*Beta vulgaris* L.) селекции Первомайской СОС (1, 3, 5, 6) показали два однонуклеотидных полиморфизма, характерные для цветущих генотипов. А генотипы под номерами 7 и 8 можно рекомендовать как материалы, устойчивые к цветущности. Проведенные молекулярно-генетические исследования имеют важную практическую значимость, так как позволяют в ранний период селекционного процесса тестировать и выбраковывать образцы, склонные к цветущности.

Финансирование: Исследование проводилось в рамках госзадания № 0453-2022-0005 – разработать методологию создания исходного селекционного материала сахарной свёклы (*Beta vulgaris* L.) с заданными признаками на основе постгеномных технологий.