

## Анализ полиморфизма генов восстановления фертильности $Rf_1$ и $Rf_2$ у *Beta vulgaris* L.

М.Б. Хакимов<sup>1,2\*</sup>, О.Г. Смирнова<sup>1</sup>, Е.А. Салина<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup> Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

\* m.hakimov@bionet.nsc.ru

**Цель:** Гены восстановления фертильности  $Rf$  (*Restorer of fertility*) играют ключевую роль в селекции гибридных сортов свёклы, обеспечивая восстановление мужской фертильности у линий с цитоплазматической мужской стерильностью. Из двух известных генов восстановления фертильности,  $Rf_1$  и  $Rf_2$ , основным считается  $Rf_1$ . Эти гены расположены соответственно в 3 и 4 хромосомах. Целью данного исследования являлся анализ полиморфизма генов  $Rf$  в коллекции образцов свёклы *Beta vulgaris* для выявления аллельных вариантов, ассоциированных с фертильностью пыльцы.

**Материалы и методы:** В исследовании было использовано 47 образцов столовой свёклы, 39 – сахарной свёклы и 10 – кормовой свёклы из коллекции ВИР. ДНК выделяли методом СТАВ. Концентрацию ДНК измеряли на приборе Introgen Qubit 3.0 и доводили добавлением ионизированной воды до 20 нг/мкл. ПЦР проводили на аппарате BioRad T100 согласно протоколу. Для идентификации гена  $Rf_1$  были использованы CAPS маркеры 17-20L и s17 и ПЦР маркер 20L-int; для гена  $Rf_2$  был использован ПЦР маркер o7. Проверку продуктов ПЦР на наличие/отсутствие генов  $Rf$  и аллельные варианты проводили с помощью электрофореза в 1% агарозном геле.

**Результаты:** У 58 образцов выявлены продукты ПЦР, характерные для обоих генов  $Rf$ . У 10 образцов выявлены продукты ПЦР, характерные только для гена  $Rf_1$ . Среди изученных образцов характерные для гена  $Rf_2$  продукты ПЦР всегда встречались только совместно с продуктами ПЦР для гена  $Rf_1$ . Амплификация с праймерами для маркера 17-20L выявила наличие целевого продукта размером 5600 п.н. у 38 образцов. У 21 образца дополнительно присутствовал ампликон размером 2700 п.н., по одному образцу имели соответственно дополнительные ампликоны 4800, 3400, 3400 + 2250, 2700 + 2250 п.н. У двух образцов были нехарактерные продукты размером 4800 + 3400 либо 2700 п.н. При использовании маркера s17 целевой продукт размером 1800 п.н. выявлен у 32 образцов. У 15 образцов присутствовал дополнительный ампликон размером 1900, у трех – 1300 п.н. Пять образцов имели дополнительные продукты 1900 + 1300, два 1900 + 850, один 1900 + 950, один 1900 + 1300 + 950 п.н., у четырех образцов присутствовал только ампликон 1900 п.н. При использовании маркера o7 характерные продукты размером 1400 и 2600 п.н. описаны у 52 образцов. У одного образца обнаружен нехарактерный продукт размером 1700 п.н. У пяти образцов выявлены различные сочетания ампликонов размером 1400 и 2600 и 1700 п.н. Следует отметить, что при использовании ПЦР маркера o7 обнаружен всего один ранее не описанный ПЦР продукт; всего было 6 образцов, где ампликоны отличались от ожидаемых. Для CAPS маркера s17 их число составило 31, а для CAPS маркера 17-20L – 27. Использование ПЦР маркера 20L-int во всех образцах дало неопределенные результаты.

**Выводы:** Изучение 96 образцов свёклы выявило амплификацию четырех неспецифических продуктов ПЦР для каждого из маркеров 17-20L и s17. Количество образцов с такими продуктами составило соответственно 58 и 51%. Согласно литературным тестирование образцов свёклы с использованием этих маркеров должно давать сопоставимые результаты, что не наблюдалось в нашем исследовании. Самым консервативным маркером оказался o7. У всех трех подтипов свёклы (сахарной, столовой, кормовой) были образцы, у которых не проходила амплификация. Самое большое разнообразие продуктов ПЦР обнаружено у сахарной свёклы (29 образцов). В дальнейшем требуется повторение экспериментов и секвенирование последовательностей нехарактерных продуктов ПЦР для обнаружения полиморфизмов генов  $Rf$ . Выявленное аллельное разнообразие генов  $Rf$  у сахарной свёклы может быть использовано для оптимизации создания гибридных семян.

**Финансирование:** Исследование поддержано бюджетным проектом № FWNR-2022-0017.