

CAPS-маркер для дифференциации аллелей гена *Ry_{chc}* у растений *Solanum chacoense* в коллекции ВИР

Е.А. Иванова*, Н.В. Алпатьева, Е.В. Рогозина

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург, Россия

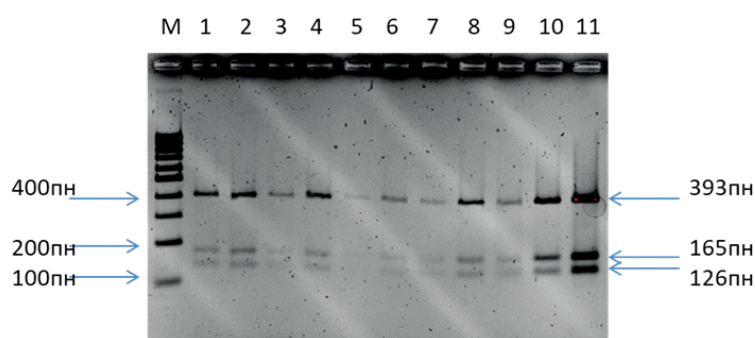
* zavarihinakat@gmail.com

Введение: Вирус Y картофеля является широко распространенным патогеном, который причиняет высокий экономический ущерб картофелеводству. Известны три эффективных гена, обеспечивающих устойчивость картофеля к PVY: *Ry_{sto}* от *Solanum stoloniferum* Schltdl. et Bouché, *Ry_{adg}* от *Solanum tuberosum* L. subsp. *andigena* Hawkes и *Ry_{chc}* от *Solanum chacoense* Bitt. Для успешной интрогрессии генов родственных видов в культурный картофель необходимо знание их аллельных вариантов у многообразия коллекционных образцов, сохраняемых *ex situ*. Впервые ген *Ry_{chc}* введен в японский сорт картофеля 'Konafubuki' от удвоенного гаплоида *S. chacoense* «w84» (Asama et al., 1982). Ген картирован на длинном плече хромосомы 9 (Takeuchi et al., 2008). Позже ген *Ry_{chc}* клонировали из другого источника – *S. chacoense* образца 40-3 (Li et al., 2022). Между двумя последовательностями *Ry_{chc}* обнаружены нуклеотидные замены и вставки/делеции, приводящие к аминокислотным заменам. В результате рассмотрения этих двух вариантов *Ry_{chc}* как эффективных аллелей одного гена со схожими функциями, были предложены их новые обозначения: *Ry_{chc}-1* для *Ry_{chc}* от 'Konafubuki' и *Ry_{chc}-2* для *S. chacoense* 40-3, и разработан KASP-маркер (*Ry_3331*) для дифференциации аллелей, на основе Т/С замены в позиции 3331 последовательности гена (Asano et al., 2024).

Цель работы: разработать не требующий специального оборудования CAPS-маркер, позволяющий дифференцировать эффективные аллели гена *Ry_{chc}*.

Материалы и методы: ДНК выделяли индивидуально из одного-шести растений каждого образца СТАВ буфером, pH 8,0 (Doyle, Doyle, 1990). С помощью специфических праймеров MG64-17-1, разработанных для идентификации гена *Ry_{chc}* (Li et al., 2022) у 11 растений четырех образцов *S. chacoense* из коллекции ВИР: к-2732 (6 растений), к-2861 (2 растения), к-7394 (1 растение), к-19769 (2 растения), устойчивых к YBK по результатам полевых опытов 2022 и 2023 гг., амплифицировали фрагменты четвертого интрона гена *Ry_{chc}*, содержащего С/Т замену в позиции 3331, дифференцирующую аллели *Ry_{chc}-1* и *Ry_{chc}-2*.

Результаты: У всех образцов получены ампликоны длиной около 690 пн. Для разработки CAPS-маркера использована рестриктаза Tru9I, сайт узнавания которой (TTAA) встречается у варианта *Ry_{chc}-1* (GenBank: LC726345.1) два раза, а у *Ry_{chc}-2* (GenBank: ON553756.1) – три. В результате электрофоретический профиль первого аллеля включал 3 фрагмента длиной 393, 297 и 7 пн, а второго аллеля – 4 фрагмента: 393, 165, 126 и 7 пн (рисунок). Один из сайтов рестрикции включает С/Т замену позиции 3331.



Электрофореграмма продуктов рестрикции фрагмента гена *Ry_{chc}* рестриктазой Tru9I у образцов *S. chacoense* из коллекции ВИР. М – маркер молекулярного веса, образцы 1-6 (к-2732), 7-8 (к-2861), 9 (к-7394), 10-11 (к-19769)

Выводы: Установлено, что все изученные растения *S. chacoense* являются носителями аллеля *Ry_{chc}-2*. Разработанный нами маркер CAPS_{*Ry_{chc}*} более доступен по сравнению с KASP-маркером и является не менее эффективным инструментом для поиска и дифференциации двух эффективных аллелей гена *Ry_{chc}* в коллекции ВИР и отбора ценных генотипов в популяциях.

Финансирование: Исследование выполнено в соответствии с планом НИР, номер темы FGEM-2025-0005.