

**ВЫЯВЛЕНИЕ РАСТЕНИЙ МОРКОВИ С ЦИТОПЛАЗМОЙ
«ПЕТАЛОИД» МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО
АНАЛИЗА**

Чистова Анастасия Викторовна, ассистент кафедры ботаники, селекции и семеноводства садовых растений, РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, chistovan@mail.ru

Монахос Сократ Григорьевич, заведующий кафедрой ботаники, селекции и семеноводства садовых растений, РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, sinonakhos@gmail.com

Аннотация: Изучена возможность применения рекомендуемых в научной литературе праймеров для выявления растений моркови с цитоплазмой типа «петалоид».

Ключевые слова: ядерно-цитоплазматическая мужская стерильность, петалоид, морковь, молекулярно-генетическое маркирование, праймеры.

Гибридное семеноводство моркови ведут на трехлинейной основе с использованием мужской стерильности, для того чтобы исключить возможность появления семян от самоопыления. Часто используют ядерно-цитоплазматическую мужскую стерильность типа «петалоид», при которой у цветков моркови вместо тычинок формируется дополнительный круг лепестков. Наибольшую сложность представляет процесс создания изогенной пары мужски стерильная линия - закрепитель стерильности.

Механизм наследования мужской стерильности моркови изучали многие исследователи, однако общего мнения нет. В различных публикациях показано, что она контролируется одним [1], двумя или тремя [2] генами ядра, причем минимум один из них доминантный. Кроме того, гены митохондрий обеспечивают проявление стерильности или восстанавливают фертильность растения. В качестве закрепителя стерильности должно использовать растение - гомозиготу по ядерным генам, обеспечивающим стерильность, но с нормальной цитоплазмой. В связи с этим, при выборе исходного материала для поиска растений - закрепителей стерильности полезно было бы сразу

исключать растения со стерильной цитоплазмой, хотя такие растения могут быть фертильными за счет генов ядра. К сожалению, невозможно по фенотипу определить качество цитоплазмы. Сделать это можно методом молекулярно-генетического анализа с помощью праймеров, представленных в статье Inga C. Bach с соавторами [3]. С помощью этих праймеров был проведен анализ растений моркови из коллекции ООО «Селекционная станция им. Н.Н.Тимофеева».

Корнеплоды моркови, выращенные в поле согласно общепринятой агротехнике, хранили при пониженной температуре, после чего высадили в теплицу для цветения. Из отрастающих листьев выделили ДНК согласно СТАВ-методу Murtagy & Thompson [4]. ПЦР проводили по стандартной методике с использованием пар праймеров, рекомендованных Bach, I.C. с соавторами [3] при условиях, описанных в той же публикации. На фотографии (рис. 1) представлены результаты электрофореза.

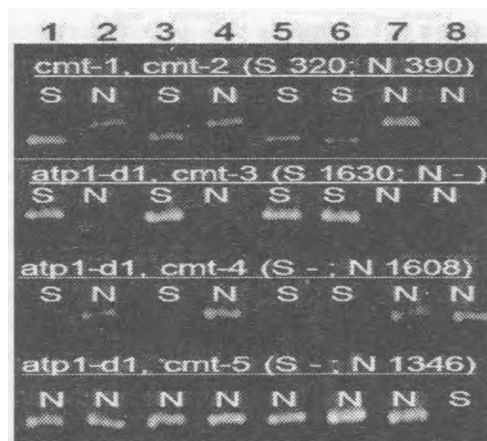


Рис. 1 Результаты электрофореза

1, 3-мужски стерильные линии; 2, 4 - линии - закрепители стерильности; 5-8 - растения с неизвестным статусом; K - отрицательный контроль (вода); *Lad* - маркер молекулярного веса; S - стерильная цитоплазма; N - нормальная цитоплазма; над чертой указаны наименования пар праймеров, в скобках — ожидаемая длина амплифицированных фрагментов.

Пары праймеров cmt-1 и cmt-2, atpl-dl и cmt-3, atpl-dl и cmt-4 показали аналогичные результаты: образцы 1,3,5,6 имеют стерильную цитоплазму, образцы 2,4,7,8 обладают нормальной цитоплазмой. Пара праймеров atpl-dl и cmt-5 показала другой результат и не подходит для скрининга коллекций моркови для выявления растений с петалоидной цитоплазмой. Пары праймеров cmt-1 и cmt-2, atpl-dl и cmt-3, atpl-dl и cmt-4 в дальнейшем были использованы на других растениях моркови коллекции селекционной станции.

Библиографический список

1. Alessandro, M.S Molecular mapping of vernalization requirement and fertility restoration genes in carrot / M.S. Alessandro, C.R. Galmarini, M. Iorizzo. P.W. Simon // Theor Appl Genet Sept 2012
2. Селянин, И.Г. Исходный материал для селекции четырехлинейных гибридов F1 столовой моркови в условиях Западной Сибири: дис. ... к. с-х. н.: 06.01.05 / Селянин Иван Григорьевич. - М., 2002. - 165 с.
3. Bach, I.C. PCR-based markers to differentiate the mitochondrial genomes of petaloid and male fertile carrot (*Daucus carota* L.) / I.C. Bach, A. Olesen. P.W. Simon // Euphytica. - 2002. - Vol.127. - P. 353-365.
4. Murray, M.G. & W.F. Thompson, 1980. Rapid isolation of high-molecular-weight plant DNA. *Nucleic Acids Res* 8: 4321-4325.