

Вариации гена *BTC1*, контролирующего время цветения сахарной свеклы

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

¹ФГБНУ «ВНИИСС им. А.Л. Мазлумова», 396030 Воронежская область, Россия

²ФГБНУ «Первомайская СОС», 352193 Краснодарский край, Россия

*Почтовый адрес: arpnal@rambler.ru Арпине Налбандян



Variations in the *BTC1* Gene Controlling Bolting and Flowering Time in Sugar Beet

A.A. Nalbandyan^{1,*}, T.S. Rudenko¹, T.P. Fedulova¹, I.V. Cherepukhina¹, Yu.V. Kapak², V.N. Mishchenko²

¹The A.L. Mazlumov All-Russian Research Institute of Sugar Beet of Russian Agricultural Academy, 396030 Voronezh Region, Russia

²Pervomayskaya Selection and Experimental Station, 352193 Krasnodar Krai, Russia

*Correspondence: arpnal@rambler.ru Arpine Nalbandyan

Аннотация

Одной из актуальных задач селекции сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) является предотвращение преждевременного стрелкования в первый год вегетации. Стрелкование связано с яровизацией и регулируется взаимодействием генов *BvFT1*, *BvFT2* и *BTC1*. Установлено, что мутации в гене *BTC1* могут менять жизненный цикл растения с двулетнего на однолетний. Понимание этих молекулярных механизмов имеет ключевое значение для создания гибридов, устойчивых к цветущности, что особенно важно в условиях изменяющегося климата и при интенсивном возделывании культуры.



Рис. 1. Сравнение *Beta vulgaris* L. с преждевременным стрелкованием (А) и в нормальном состоянии (Б).

Методы

В данном исследовании использованы растения 8 отечественных селекционных ценных генотипов сахарной свеклы, отобранных на провокационном фоне (Первомайская СОС). Для проведения молекулярно-генетических экспериментов использовали зеленую массу сахарной свеклы. Тотальную ДНК выделяли с использованием СТАВ-метода. Классическую ПЦР проводили с использованием пары специфических маркеров F99/R99, сконструированной в программе Primer-Blast. Полученные ампликоны были проанализированы на генетическом анализаторе ГТЗ (Китай) по Сэнгеру.

Результаты

В результате тестирования 8 селекционно-ценных образцов сахарной свеклы 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. 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).

Выявленные SNPs

Ниже приведен фрагмент аминокислотной последовательности белка гена *BTC1*, кодируемой экзоном 9, красным отмечены аминокислоты (изначальные (а) и замещенные вследствие однонуклеотидного полиморфизма (б)):

а) ...PQENNVDQQL KIQRHHHHYHH YDVHSVQQLP KSVVQHNMSK
SKDVTAPPQC GSSNTCSRPI KANVANCSLN GSGSGSNHGS
NFLNGSSAAV NVEGTNMVND SRIA AKDGAE NGSGSGSGSG
SGSGVGVDQS RSAQREAA LN KFRLKRKERC FDKK

б) ...PQENNVDQQL KIQRHHHHYHH YDVHSVQQLP KSVVQHNMPK
SKDVTAPPQC GSSNTCSRPI EANVANCSLN GSGSGSNHGS
NFLNGSSAAV NVEGTNMVND SRIA AKDGAE NGSGSGSGSG
SGSGVGVDQS RSAQREAA LN 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), способствующими замене аминокислот в полипептидной цепи.

Выводы

В результате проведенного молекулярно-генетического анализа установлено, 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 свеклы (*Beta vulgaris* L.) селекции Первомайской СОС (1, 3, 5, 6) показали два однонуклеотидных полиморфизма, характерных для цветущих генотипов. А образцы №№ 7 и 8 рекомендованы селекционерам в качестве устойчивых к цветущности материалов. 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 свеклы (*Beta vulgaris* L.) с заданными признаками на основе постгеномных технологий.