УДК 634.21:631.523:577.21

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ПАСПОРТИЗАЦИЯ СОРТОВ АБРИКОСА БЕЛОРУССКОЙ СЕЛЕКЦИИ

Гашенко Т. А., Рудницкая Н. Л.
РУП «Институт плодоводства»
аг. Самохваловичи, Минский р-н, Республика Беларусь

В любой селекционной программе важно иметь возможность выявить уникальные ДНК-профили для сортовой идентификации, определения генетического разнообразия, выявления родительских форм и изучения таксономического родства. Использование SSR-маркеров обеспечивает возможность решения этих задач в генетике и селекции плодовых культур рода Prunus. Сочетание менее трудоемкого морфологического анализа с методом молекулярного маркирования приводит к более надежным выводам для оценки генетического разнообразия плодовых растений. Известен целый ряд публикаций, связанных с изучением генетического полиморфизма абрикоса на основе микросателлитных повторов [1-3]. Отметим, что отечественный генофонд абрикоса с использованием современных молекулярных методов мало изучался в Беларуси. Поэтому данное направление по генетическим исследованиям абрикоса все еще остается актуальным.

Объектами исследований являлись 6 сортов абрикоса белорусской селекции: Знаходка, Спадчына, Дэбют, Камея, Лявон, Память Шевчука.

ДНК была выделена из листьев абрикоса набором Genomic DNA Purification Kit согласно рекомендованному протоколу. Для анализа генетического разнообразия сортов абрикоса были использованы 6 SSR-маркеров серии EMPA (EMPA005, EMPA015, EMPA006, EMPA001, EMPA026, EMPA019) и 7 маркеров серии BPPCT (BPPCT016, BPPCT040, BPPCT004, BPPCT017, BPPCT039, BPPCT025, BPPCT026) [4, 5]. Маркеры были сгруппированы в наборы по 2-3 пары с учетом имеющихся сведений об их размерах.

Амплификацию с праймерами серии EMPA проводили в следующих условиях: I этап, 1 цикл, 95 °С – 5 мин; II этап, 10 циклов: 95 °С – 40 с, 60 °С – 60 с (-1 °С на цикл), 72 °С – 30 с; 25 циклов: 95 °С – 40 с, 50 °С – 60 с, 72 °С – 30 с; III этап, 72 °С – 5 мин. Амплификацию с праймерами серии BPPCT проводили в условиях: I этап, 1 цикл, 95 °С – 5 мин; II этап, 35 циклов: 95 °С – 40 с, 57 °С – 60 с, 72 °С – 30 с; III этап, 72 °С – 5 мин.

Для подтверждения наличия продуктов амплификации предварительно визуализировали в 1,5%-м агарозном геле. Далее продукты ПЦР

РЕПОЗИТОРИЙ ГГАУ

визуализировали в ультрафиолетовом свете. Фрагментный анализ проводили на генетическом анализаторе «GenomeLab GeXP Beckman Coulter». В качестве стандарта молекулярного веса использовали внутренний стандарт GenomeLab DNA Size Standard Kit-600 (Beckman Coulter).

Для каждого используемого маркера определялась длина аллелей и количество полиморфных фрагментов для каждого сорта. Количество аллелей на локус варьировало от 2 (EMPA005) до 7 (BPPCT004, EMPA019, BPPCT039). Наименее полиморфным оказался локус EMPA005, количество обнаруженных аллелей составило 2. С помощью маркера BPPCT016 количество обнаруженных аллелей составило 3. В локусах BPPCT040, EMPA001, EMPA026, EMPA006, BPPCT017, BPPCT025 и BPPCT026 выявили 4 и 5 аллелей. С помощью маркера EMPA015 в геноме тестируемых образцов удалось выявить 6 полиморфных аллелей. Максимальное количество аллелей 7 было выявлено в локусах BPPCT004, EMPA019 и BPPCT039. Для 6 проанализированных сортов абрикоса было выявлено 64 аллеля по 13 изученным локусам. Количество выявляемых аллелей в локусе зависит от состава выборки исследуемых образцов и значительно увеличивается при большем разнообразии генотипов.

Таким образом, был проведен анализ полиморфизма 13 микросателлитных локусов 6 сортов абрикоса. В результате исследований на основе анализа микросателлитных локусов была выполнена ДНК-паспортизация сортов абрикоса, что положило начало формированию базы ДНК-паспортов данной культуры. Данные об аллельном составе изученных сортов абрикоса могут быть использованы в селекции для идентификации и паспортизации данных сортов и для сохранения и поддержания генетической коллекции косточковых культур.

ЛИТЕРАТУРА

1. Степанов, И. В. Использование SSR маркеров в генетических исследованиях рода Prunus / И. В. Степанов // Научный журнал КубГАУ. – 2013. – № 90 (06). – С. 191-204.

2. Hormaza j.I. molecular characterization and similarity relationships among apricot (Prunus armeniaca L.) genotypes using simple sequence repeats. Theor Appl genet. 2002. No. 104.– P. 321-328. DoI: 10.1007/s001220100684.

3. Decroocq V., fave m.g., hagen L., bordenave L., Decroocq S. Development and transferability of apricot and grape EST microsatellite markers across taxa. Theor. and Appl. gen. 2003. No. 106. P. 912-922. DoI: 10.1007/s00122-002-1158-z.

4. Dirlewanger E., Cosson P., Tavaud M., et al. Development of microsatellite markers in peach [Prunus persica (L.) Batsch] and their use in genetic diversity analysis in peach and sweet cherry (Prunus avium L.) // Theoretical Applied Genetics. – 2002. – Vol. 105. – P. 127-138. doi 10.1007 / s00122-002-0867-7

5. Clarke J.B., Tobbutt K.R. Development and characterization of polymorphic microsatellites from Prunus avium "Napoleon" // Molecular Ecology Notes. – 2003. – Vol. 3. – P. 578-580. doi 10.1046/j.1471-8286.2003.00517.x

РЕПОЗИТОРИЙ ГАУ