

Молекулярное маркирование в селекции сахарной свёклы

Обзор

Т.П. ФЕДУЛОВА, гл. научн. сотрудник, д-р биолог. наук, профессор

А.А. НАЛБАНДЯН, канд. биолог. наук (e-mail: arpnal@rambler.ru)

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свёклы и сахара имени А.Л. Мазлумова» (ВНИИСС)

Сахарная свёкла является важной сельскохозяйственной культурой во всём мире, используется как сырьё для производства сахара. Анализ отечественных и иностранных литературных источников вскрыл некоторые проблемы в использовании ДНК-технологий в селекции данной важнейшей технической культуры, а именно двулетний цикл развития, перекрёстный характер опыления, наличие явлений самонесовместимости, полиплоидии, открытие и использование мутаций ЦМС, раздельноплодности осложняют вопросы взаимодействия молекулярной генетики и классической селекции, направленных на повышение продуктивности, сахаристости и устойчивости к стрессовым факторам [1].

Большое значение в селекции сельскохозяйственных культур имеет использование молекулярно-генетических маркеров, которые в отличие от морфологических не проявляют себя в фенотипе, по количеству превосходят их, не затрагивают физиологию организма, наследуются доминантно (например: RAPD, AFLP) и кодоминантно (например: RFLP, SSRs), не изменяются под воздействием внешней среды. В последнее время широко применяются методы анализа однонуклеотидных замен (SNPs), обуславливающих генети-

ческое разнообразие среди особей вида и встречающихся с различной частотой у разных видов по всему геному. Однако такие хозяйственно полезные признаки, как урожайность, сахаристость, устойчивость к некоторым био- и абиотическим стрессам, являются полигенными (QTL), что затрудняет их молекулярно-генетическую идентификацию и картирование [2–5].

При планировании генетических экспериментов и выборе методов селекции необходимо знание молекулярно-генетических особенностей объекта исследований. Одним из важнейших этапов в применении достижений молекулярной биологии для повышения эффективности селекции сахарной свёклы является поиск генов, отвечающих за хозяйственно ценные признаки, их картирование и использование для контроля результатов скрещиваний. С этой целью в разных странах созданы коллекции зародышевой плазмы диких и культурных видов и форм свёклы, а также международные базы данных по собранным коллекционным образцам, используемым при проведении таких исследований, имеется Банк генов. К сожалению, зарубежные монографии малодоступны отечественному читателю, а в публикациях российских авторов вопросы

молекулярно-генетических исследований сахарной свёклы рассматриваются фрагментарно. Поэтому мы сочли целесообразным обобщить имеющуюся информацию, дополнив её новейшими научными данными, что обеспечит возможность, на наш взгляд, получить более полное представление о современном состоянии молекулярной генетики и селекции сахарной свёклы, необходимое для составления программ их дальнейшего развития.

Сахарная свёкла в молекулярно-генетическом аспекте в Российской Федерации изучена недостаточно и представляет собой интерес как для фундаментальной науки, так и в практических селекционных целях. В селекции данной культуры важную роль играет целенаправленный отбор исходного материала с желаемыми признаками и обладающим высоким уровнем разнообразия, чтобы обеспечить успех при создании высокопродуктивных гибридов. Использование селективных ДНК-маркеров для оценки селекционных коллекций способно значительно ускорить процесс выделения перспективных форм для оптимизации подбора пар скрещиваний. В геномах растений и животных широко распространены микросателлитные повторы, которые окружают многие

гены и используются как якорные последовательности к этим генам. SSR-метод (Simple Sequence Repeat) является одним из высокоэффективных и надёжных для применения в генетическом анализе [6–8]. Данный метод к настоящему времени широко используется для изучения генофондов многих видов растений, их картирования и маркирования селекционно ценных признаков [9].

Одним из нежелательных признаков в процессе развития сахарной свёклы является цветущность. Проблема стала беспокоить современного селекционера в связи с большим количеством возделываемых иностранных гибридов и изменением климатических условий. Помимо экологических факторов, таких как низкая температура и длинный световой день на начальных этапах развития корнеплода, она также обусловлена работой определённого набора генов, комплексно наследуемых и регулирующих переключение жизненного цикла культуры от однолетнего к двулетнему. Перекрёстное опыление дикой свёклы *V. maritima* L. с культурной на площадях производства семян может привести к интрогрессии локуса *B*, контролирующего время выхода в стрелку, в двулетние возделываемые гибриды, результатом чего будет засорение гибридов растениями с ранним выходом в стрелку. При этом происходят потери урожая и содержания сахара и возникают проблемы с уборкой. Так, гены *BTCS1*, *BvFT1* и *BvFT2* являются основными регуляторами времени цветения. Локус выхода в стрелку *BOLTING TIME CONTROL 1 (BTCS1)* отвечает за однолетний цикл развития. В доминантной форме аллели этот ген обуславливает однолетний цикл развития, в рецессивном — двулетний. Совместно с ним наследуются и находятся под его управлением

гены *FLOWERING LOCUS T (FT1 и FT2)*. Ген *BvFT2* отвечает за инициацию цветения, а *BvFT1*, наоборот, подавляет процесс цветения. Доминантная аллель гена *BTCS1* репрессирует *BvFT1*, одновременно активируя *BvFT2*, вызывая выход побега и цветение. У растений с двулетним циклом развития экспрессия рецессивной аллели *btc1* увеличивается постепенно, до минимальных показателей экспрессии *BvFT1* во время яровизации, что позволяет снять на этот период супрессию с *BvFT2*, тем самым стимулируя экспрессию для инициации цветения. Кроме того, ген *BvBBX19*, действующий эпистатически на систему генов *BTCS1*, *BvFT1* и *BvFT2*, в зависимости от наличия тех или иных полиморфизмов также может определять цикл развития растений. На сегодняшний день установлена чёткая локализация вышеперечисленных генов на хромосомной карте сахарной свёклы, выявлены и описаны SNPs, имеющие решающее значение при регуляции времени выхода в стрелку цветоноса [10, 11].

Значительное отрицательное влияние на растения сахарной свёклы оказывают абиотические факторы, такие как засуха, засоление, тяжёлые металлы, кислотность почвы и прочее, что сказывается на урожайности. Системы исследования стресса засухи у растений привели к идентификации большого количества генов, белков и метаболитов, которые отвечают на сильный стресс засухи или высыхание. Однако, несмотря на выявление многих генов, окончательное понимание механизмов устойчивости к засухе, которые позволяют некоторым видам сохраняться в экстремальных условиях окружающей среды и привели бы к повышению устойчивости к засухе и стабильности урожая растений, не ясно. Большое количество соли, накапливающейся

в почве, препятствует впитыванию воды семенами, вызывает дисбаланс питательных веществ, ферментативное торможение и метаболическую дисфункцию, что приводит к снижению скорости фотосинтеза. В долгосрочном эволюционном процессе растения формируют физиологический механизм адаптации в ответ на солевой стресс. Большой успех в понимании и решении проблемы адаптации растений к засолению достигнут с развитием методов молекулярной генетики, что позволило идентифицировать многие гены, активирующиеся при засолении. Выявлено, что в ответ на повышение концентрации NaCl увеличивается уровень экспрессии генов, контролирующих белки семейства NHX-антипортеров, локализованных на клеточной и вакуольной мембранах [12–18].

Современная селекция сахарной свёклы направлена на создание гибридов с высокой степенью раздельноцветковости, хорошим качеством семян, повышенной продуктивностью. Такими характеристиками обладают односемянные диплоидные гибриды на основе ЦМС. Посевные качества семян данных гибридов соответствуют технологии возделывания культуры на индустриальной основе [19–21].

Цитоплазматическая мужская стерильность (ЦМС) регулируется деятельностью митохондриальных генов. Данный признак проявляется образованием пыльников со стерильной пылью, его развитие является результатом ядерно-цитоплазматических взаимодействий. Механизмы формирования ЦМС у сахарной свёклы, а также конкретные гены, ответственные за этот признак в составе мтДНК, неизвестны, хотя выявлен ряд митохондриальных последовательностей, наличие которых коррелирует с этим признаком [22–25].

Во ВНИИСС им. А.Л. Мазлумова в настоящее время также проводятся широкомасштабные исследования по использованию молекулярно-генетических маркеров в селекционном процессе сахарной свёклы. Так, А.С. Хуссейном с коллегами [26] выявлены новые полиморфизмы в гене *BTCL*, контролирующем выход в стрелку в генотипах отечественной и зарубежной селекции, позволившие отобрать источники устойчивости к цветущности. Скрининг регенерантов сахарной свёклы на наличие генов устойчивости к солевому стрессу и тяжёлым металлам позволил выделить сортообразцы с устойчивостью к данным абиотическим факторам [27, 28]. Для создания перспективных гибридов осуществлена дифференциация и кластеризация сортообразцов по микросателлитным маркерам, позволившая подобрать наиболее ценные родительские формы для гибридизации [29, 30].

Установление полиморфных ДНК-маркеров для молекулярного картирования, выявления генетического разнообразия исходного материала сахарной свёклы, подбора родительских пар для гибридизации, идентификации генов, сцепленных с признаком цветущности, отбора селекционного материала, с генами устойчивости к биотическим и абиотическим стрессорам является актуальным направлением исследований.

Приведённый обзор мировой литературы по изучению генетической изменчивости, идентификации и паспортизации селекционных достижений, отбору на основе молекулярных маркеров исходных форм с селекционно и хозяйственно ценными признаками – весьма своевременный и актуальный в связи с необходимостью сокращения сроков создания гибридов нового поколения и скорейшего возрастания их численности.

Список литературы

1. Корниенко, А.В. Генетика и селекция сахарной свёклы *Beta vulgaris* L. / А.В. Корниенко, А.К. Буторина // Воронеж : Воронежский ЦНТИ, 2012. – 391 с.
2. Holtgrawe D., Rosleff Th., Vieho P., Schneider J., Schulz B., Borchardt D., Kraft Th., Himmelbauer H., Weisshaar B. Polymorphisms and Their Application for Extending the Genetic Map of Sugar Beet (*Beta vulgaris*) // PLOS ONE. 2014. No. 9 (10). Pp. 1–10. DOI: 10.1371/journal.pone.0110113.
3. Broccanello Ch., Chiodi C., Funk A., Mitchell McGrath J., Pannella L., Stevanato P. Comparison of three PCR-based assays for SNP genotyping in plants // Plant Methods. 2018. No. 14. Article number 28. DOI: 10.1186/s13007-018-0295-6.
4. Spadoni A., Sion S., Gadaleta S., Savoia M., Piarulli L., Fanelli V., Rienzo V., Taranto F., Miazzi M., Montemurro C., Sabetta W. A Simple and Rapid Method for Genomic DNA Extraction and Microsatellite Analysis in Tree Plants // Journal of Agricultural Science and Technology. 2019. No. 21 (5). Pp. 1215–1226.
5. ДНК-маркирование сахарной свёклы (*Beta vulgaris* L.) для отбора форм с целевыми признаками : монография / А.А. Налбандян, А.С. Хуссейн, Т.П. Федулова, И.В. Черепухина. – М. : ООО «Ритм: издательство, технологии, медицина». – 2022. – 54 с. ISBN 978-5-00208-001-4
6. Smulders M., Esselink G., Danny G., Riek J., Vosman B. Characterisation of sugar beet (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris*) varieties using microsatellite markers // BMC Genetics. 2010. No. 11. Article number 41. DOI: 10.1186/1471-2156-11-41.
7. Sandhu K., Sarao K., Meenakshi G., Uppal S., Pritpal S., Satveer K., Jaspreet K. Profiling of sugar beet genotypes for agronomical, sugar quality and forage traits and their genetic diversity analysis using SSR markers //

Electronic Journal of Plant Breeding. 2016. No. 7. Pp. 253–266. DOI: 10.5958/0975-928X.2016.00033.8.

8. Taheri S., Abdullah L., Yusop M., Hanafi M., Sahebi M., Azizi P., Shamshiri R. Mining and Development of Novel SSR Markers Using Next Generation Sequencing (NGS) Data in Plants // Molecules. 2018. No. 23. Article number 399. DOI: 10.3390/molecules23020399.

9. Dohm J.C., Minoche A.E., Holtgrawe D., Capella-Gutierrez S., Zakrzewski F. The genome of the recently domesticated crop plant sugar beet (*Beta vulgaris*) // Nature. 2014. No. 505. Pp. 546–549. DOI: 10.1038/nature12817.

10. Tränkner C., Lemnian I.M., Emrani N., Pfeiffer N., Tiwari S.P., Kopisch-Obuch F.J. A detailed analysis of the BR1 locus suggests a new mechanism for bolting after winter in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) // Frontiers in Plant Science. 2016. No. 7. Article number 1662. DOI: 10.3389/fpls.2016.01662.

11. Höft N., Dally N., Hasler M., Jung Ch. Haplotype Variation of Flowering Time Genes of Sugar Beet and Its Wild Relatives and the Impact on Life Cycle Regimes // Frontiers in Plant Science. 2018. No. 8. Article number 2211. DOI: 10.3389/fpls.2017.02211.

12. Jin H., Dong D., Yang Q., Zhu D. Salt-responsive transcriptome profiling of *suaeda glauca* via RNA sequencing // PLOS ONE. 2016. No. 11. Article number 0150504. DOI:10.1371/journal.pone.0150504.

13. Ali Sh., Rizwan M., Qayyum M., Sik-Ok Y., Ibrahim M., Riaz M., Arif M., Hafeez F., Al-Wabel M., Shahzad A. Biochar soil amendment on alleviation of drought and salt stress in plants: a critical review // Environmental Science and Pollution Research. 2017. No. 24. Pp. 12700–12712. DOI: 10.1007/s11356-017-8904-x.

14. Geng G., Chunhua L., Stevanato P., Li R., Liu H., Yu L., Wang Y.

Transcriptome Analysis of Salt-Sensitive and Tolerant Genotypes Reveals Salt-Tolerance Metabolic Pathways in Sugar Beet // International Journal of Molecular Sciences. 2019. No. 20 (23). Article number 5910. DOI: 10.3390/ijms20235910.

15. Rodríguez-Rosales M., Gálvez F., Huertas R., Aranda M., Baghour M., Cagnac O., Venema K. Plant NHX cation/proton antiporters // Plant Signaling & Behavior. 2009. No. 4 (4). Pp. 265–276. DOI: 10.4161/psb.4.4.7919.

16. Adler G., Blumwald E., Bar-Zvi D. The sugar beet gene encoding the sodium/proton exchanger 1 (BvNHX1) is regulated by a MYB transcription factor // Planta. 2010. No. 232. Pp. 187–195. DOI: 10.1007/s00425-010-1160-7.

17. Gui G., Chunhua L., Stevanato P., Li R., Liu H., Yu L., Wang Y. Transcriptome Analysis of Salt-Sensitive and Tolerant Genotypes Reveals Salt-Tolerance Metabolic Pathways in Sugar Beet // International Journal of Molecular Sciences. 2019. No. 20 (23). Article number 5910. DOI: 10.3390/ijms20235910.

18. Liu L., Wang B., Liu D., Zou Ch., Wu P., Wang Z., Wang Y., Li C. Transcriptomic and metabolomic analyses reveal mechanisms of adaptation to salinity in which carbon and nitrogen metabolism is altered in sugar beet roots // BMC Plant Biology. 2020. No. 20. Article number 138. DOI: 10.1186/s12870-020-02349-9.

19. Стабилизация признака односемянности при создании компонентов гибридов сахарной свёклы / В.П. Ошевнев, Н.П. Грибанова, Е.Н. Васильченко, Р.В. Бердников // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2018. – № 20 (2). – С. 186–191.

20. Hemayati S., Taleghani D., Shahmoradi Sh. Effects of steckling weight and planting density on sugar beet (*Beta vulgaris* L.) mono-

germ seed yield and qualitative traits // Pakistan Journal of Biological Sciences. 2008. No. 11 (2). Pp. 226–231. DOI: 10.3923/pjbs.2008.226.231.

21. Amiri R., Sarafraz E., Sadat Noori S., Norouzi P., Seyedmohammadi N. A new molecular marker linked to gene for monogermity in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) // Romanian Agricultural Research. 2011. No. 28. Pp. 95–101.

22. Анализ гетероплазматического состояния митохондриальной ДНК фертильных и мужско-стерильных растений сахарной свёклы (*Beta vulgaris*) / А.Г. Брагин, М.К. Иванов, Л.А. Федосеева, Г.М. Дымшиц // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2011. – № 15 (3). – С. 585–590.

23. Федулова, Т.П. Скрининг исходных материалов сахарной свёклы на наличие минисателлитных локусов TRs, связанных с ЦМС / Т.П. Федулова, А.А. Налбандян, Т.Н. Дуванова // Сахар. – 2022. – № 3. – С. 38–42. DOI: 10.24412/2413-5518-2022-3-38-41.

24. Nishizawa S., Kubo T., Mikami T. Variable number of tandem repeat loci in the mitochondrial genomes of beets // Current Genetics. 2000. No. 37. Pp. 34–38. DOI: 10.1007/s002940050005.

25. Xia H., Zhao W., Shi Y., Wang X., Wang B. Microhomologies Are Associated with Tandem Duplications and Structural Variation in Plant Mitochondrial Genomes // Genome Biology and Evolution. 2020. No. 12 (11). Pp. 1965–1974. DOI: 10.1093/gbe/evaa/172.

26. Новые полиморфизмы в гене ВТС1 сахарной свёклы / А.С. Хуссейн, А.А. Налбандян, Т.П. Федулова [и др.] // Биотехнология. – 2020. – № 36 (6). – С. 66–71. DOI: 10.21519/0234-2758-2020-36-6-66-71.

27. Скрининг растений-регенерантов сахарной свёклы на наличие гена устойчивости к тяжёлым металлам МТР4 / А.С. Хуссейн, Н.Р. Михеева, А.А. Налбандян, Н.Н. Черкасова // Биотехнология. – 2021. – № 37 (4). – С. 14–19. DOI: 10.21519/0234-2758-2021-37-4-14-19.

28. Гены устойчивости к засолению у сахарной свёклы / Т.П. Федулова, Т.С. Руденко, А.А. Налбандян, А.В. Моисеенко // Аграрный научный журнал. – 2023. – № 1. – С. 64–70. <http://10.28983/asj.y2023i1pp64-70>.

29. Nalbandyan A.A., Hussein A.S., Fedulova T.P., Cherepukhina I.V., Kryukova T.I., Rudenko T.S., Mikheeva N.R., Moiseenko A.V. Differentiation of Sugar Beet Varieties Using SSR Markers: A Tool to Create Promising Hybrids // Russian Agricultural Sciences. – 2020. – No. 46 (5). – Pp. 442–446. DOI: 10.3103/S1068367420050146.

30. Полиморфные микросателлитные маркеры для изучения генетического разнообразия сахарной свёклы *Beta vulgaris* L. / А.А. Налбандян, Т.П. Федулова, Т.И. Крюкова [и др.] // Российская сельскохозяйственная наука. – 2022. – № 6. – С. 3–9. DOI: 10.31857/S2500262722040000

Аннотация. Представлен анализ молекулярно-генетических исследований по сахарной свёкле и их применение в практической селекции, освещённые в литературных источниках отечественных и зарубежных учёных.

Ключевые слова: сахарная свёкла, маркер-опосредованная селекция, ПЦР-анализ. **Summary.** An analysis of molecular genetic studies on sugar beet and their application in practical breeding, covered in the literature of domestic and foreign scientists, is presented.

Keywords: sugar beet, marker-assisted breeding, the PCR-analysis.