

## ВВЕДЕНИЕ

Коллекция яблони Всероссийского института генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова (ВИР) является наиболее обширной и разнообразной на территории нашей страны и включает более 3800 образцов видов и сортов. В ее состав входит большое количество сортов русской и европейской народной селекции, которые часто используют в своей работе селекционеры. В процессе эволюции эти сорта прошли длительный отбор и обладают высокой адаптивностью и пластичностью в изменяющихся климатических условиях, поэтому они активно привлекаются в современные селекционные программы, а поиск новых источников и доноров хозяйственно-ценных признаков среди них является целесообразным.

Плоды яблони – скоропортящийся продукт, который для круглогодичного потребления в свежем виде требуют специальных технологий сбора и хранения. Лежкость плодов – один из ключевых показателей товарно-потребительского качества сорта, определяющий его конкурентоспособность на рынке.

Генотипы с длительной лежкостью плодов всегда представляли интерес для селекционеров как исходный материал для создания новых качественных сортов. Особенностью плодов яблони является то, что они активно дозревают после сбора урожая. Это связано с увеличением синтеза белка экспансина и выработкой большого количества эндогенного этилена, накопление которого отрицательно влияет на сохранность. Знание механизмов генетического контроля данных признаков позволит значительно сократить время для получения новых форм.

Показано, что количество этилена в плодах яблони различных сортов варьирует в больших пределах и влияет на лежкость плодов. Биосинтез этилена контролируется двумя ключевыми ферментами – АЦК-синтазой (синтаза 1-аминоциклопропан-1-карбоновой кислоты, ACS) и АЦК-оксидазой (оксидаза 1-аминоциклопропан-1-карбоновой кислоты, ACO). Данные ферменты кодируются двумя генами – *Md-ACSI* и *Md-ACO1*. В зависимости от их аллельного состояния уровень биосинтеза этилена различается. Большинство исследователей отмечает, что сочетание аллельных форм *Md-ACSI-2* и *Md-ACO1-1* приводит к значительному снижению уровня биосинтеза этилена. (Sunako et al., 1999; Harada et al., 2000; Costa et al., 2005; Zhu and Barritt, 2008).

Экспансин – белок, накопление которого способствует нарушению нековалентных связей между матрицей гемицеллюлозы и целлюлозы микрофибрилл, что приводит к размягчению плодов и уменьшению срока их хранения (Шарова, 2007). *MD-Exp7* является одним из генов, контролирующих уровень экспансина у яблони (Costa et al., 2008).

На основании анализа нуклеотидных последовательностей данных генов созданы молекулярные маркеры, использование которых позволяет проводить скрининг больших генетических коллекций.

Нами изучены 109 образцов сортов яблони народной селекции из полевого генного банка «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР».

В качестве биологического материала использовали молодые листья. Экстракция ДНК была проведена из части листовой пластинки каждого растения. Для выделения использовали метод, предложенный Д. Пучоа и адаптированный для работы с растениями, имеющими с высокое содержание полифенольных соединений (Puchoa, 2004). При проведении реакции были использованы следующие последовательности специфичных для аллелей праймеров производства Евроген (Россия) (табл. 1).

**Таблица 1.**

**Аллель-специфичные праймеры для генов лежкости яблони**

Ген	Аллели генов	Последовательности праймеров, использованные в ПЦР	Ожидаемый размер ДНК-фрагмента (пн)	Литературный источник
<i>Md-ACO1</i>	<i>Md-ACO1-1</i> <i>Md-ACO1-2</i>	F5'-TCCCCCAATGCACCACTCCA-3' R5'-GATTCCTTGGCCTTCATAGCTTC-3'	525 587	Costa, 2005
<i>Md-ACSI</i>	<i>Md-ACSI-1</i> <i>Md-ACSI-2</i>	F5'- AGAGAGATGCCATTTTTGTTCGTAC-3' R5'- CCTACAAACTTGCCTGGGGATTATAAG TGT-3'	489 655	Costa, 2005
<i>MD-Exp7</i>	<i>MD-Exp7-1</i> <i>MD-Exp7-2</i> <i>MD-Exp7-3</i>	F5'-CATAGAAGGTGGCATGAGCA R5'- TTTCTCCTCACACCCAAACC	198 202 214	Costa, 2008

Реакционная смесь для ПЦР объемом 15 мкл содержала: 20 нг геномной ДНК, 0,25 мМ каждого dNTP, 2,5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 0,2 мкМ каждого праймера, 1 ед. Taq полимеразы и 1,5 мкл 10x ПЦР-буфера (все компоненты производства Диалат (Россия)).

Продукты ПЦР с праймерами *Md-ACSI* и *Md-ACO1* разделяли в 2%-ном агарозном геле и окрашивали бромидом этидия.

SSR-анализ продуктов амплификации с праймерами *Md-Exp7* проводили методом капиллярного электрофореза на генетическом анализаторе ABI Prism 3130xl (Thermo Fisher Scientific). Результаты анализировали с использованием GeneMapper v4.1 (Thermo Fisher Scientific).

В таблице 2 представлены результаты молекулярного анализа (графы 8-10). Указаны сроки созревания плодов яблони и характеристика их лежкости (графа 7). Лежкость плодов определяли по «Программе и методике сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур, 1999». В графе 4 названия учреждений и прочие места сбора образцов яблони в коллекцию даны, так как были зарегистрированы в каталогах поступления материала.

## СОДЕРЖАНИЕ

Введение .....	5
Характеристика лежкости плодов образцов яблони народной селекции из полевого генного банка НПБ «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР» и их генотипы по аллелям генов <i>ACSI</i> , <i>ACO1</i> , <i>EXP7</i> .....	7
Литература .....	24