

использован метод инцухтирования. В данном случае инбредная депрессия не была ярко выражена. Потенциальная продуктивность полученного сорта составила 1,8-2,0 т/га. Растения устойчивы к полеганию и растрескиванию стручков.

Неформальный подход к выбору методов селекции с учетом степени перекрестного опыления позволяет применять их в различных сочетаниях, что повышает эффективность работы.

### Список литературы

1. Бочковой А.Д., Перетягин Е.А., Хатнянский В.И. и др. Роль пчелоопыления в получении высоких и стабильных урожаев кондитерских сортов подсолнечника // Масличные культуры. Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. 2017. Вып. 1(169). С. 83-92.
2. Дарвин Ч. Гибридизация. Соч. Т.3. М.-Л., 1939. С. 253-680.
3. Жученко А.А. Адаптивная система селекции растений. М., 2001. 1490 с.
4. Картамышева Е.В. Использование особенностей биологии цветения горчицы сизой в селекции // Материалы XVI Международного симпозиума «Нетрадиционное растениеводство. Селекция. Эниология. Экология и здоровье». Симферополь, 2007. С. 263-264.
5. Пустовойт В.С. Избранные труды. – М.: Агропромиздат, 1990. 367 с.
6. Тер-Аванесян Д.В. Опыление и наследственная изменчивость. М., 1957. 284 с.

### ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНОМА У АЛЛОПЛАЗМАТИЧЕСКИХ ЛИНИЙ ПОДСОЛНЕЧНИКА С РАЗЛИЧНЫМИ ТИПАМИ ЦМС

Макаренко М.С.<sup>1</sup>, Логачева М.Д.<sup>2</sup>, Усатов А.В.<sup>1</sup>, Азарин К.В.<sup>1</sup>, Гаврилова В.А.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия

<sup>2</sup>Институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

<sup>3</sup>Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия, mcmakarenko@yandex.ru

Цитоплазматическая мужская стерильность (ЦМС), или формирование нежизнеспособной или стерильной пыльцы у растений обусловлена изменениями в структуре митохондриальной ДНК (мтДНК). На сегодняшний день это наиболее коммерчески востребованные нехромосомные мутации, успешно используемые в гибридном производстве сельскохозяйственных культур (Kazama, Toriyama, 2016).

Методом высокопроизводительного параллельного секвенирования (NGS) впервые были получены нуклеотидные последовательности ДНК и проведена сборка *de novo* митохондриальных геномов у трех аллоплазматических линий НА89 подсолнечника из коллекции ВИР – фертильной и двух стерильных РЕТ1 и РЕТ2. В качестве референсного митохондриального генома использовали последовательность мтДНК фертильной линии НА412 подсолнечника из базы данных NCBI (NC\_023337.1).

Сравнительный анализ митохондриальной ДНК двух фертильных линий подсолнечника НА89 и НА412 не выявил различий. Однако, мтДНК двух стерильных линий НА89 (РЕТ1 и РЕТ2) существенно отличалась от своего фертильного аналога, как крупными перестройками, так и незначительными изменениями структуры.

Ранее, с помощью рестрикционного анализа у стерильной линии подсолнечника на основе ЦМС типа РЕТ1 были выявлены крупные aberrации мтДНК, приводящие к стерильности растений - инверсия участка в 12,1 т.п.н. между генами *cob* and *atp1* и инсерция 4,7 т.п.н. между генами *orf873* и *apt1* (Kohler et al., 1991). Полученные нами результаты не только подтвердили наличие этих реорганизаций митохондриального генома, но и позволили определить новые

мутационные изменения в количестве 19-ти вариантных сайтов: 8 SSR полиморфизмов и 11 SNP. 8 из 11 SNP были локализованы в межгенных регионах, один – в промоторе гена *atp6*, а остальные два – затрагивали кодирующую часть генома, приводя к несинонимичным заменам в генах *nad6* (Ser232Tyr) и *rpl16* (Lys32Gln).

Структура мтДНК у стерильной линии подсолнечника НА89 на основе ЦМС типа РЕТ2 отличалась и от фертильного и стерильного ЦМС (РЕТ1) аналогов, как крупными перестройками, так и незначительными изменениями структуры. Крупные перестройки у ЦМС (РЕТ2) были уникальны: две делеции (0,9 и 3,8 т.п.н.), две инсерции (5 и 7,5 т.п.н.), и транспозиция участка около 5,5 т.п.н. Делеция 0,9 т.п.н. локализована в межгенном регионе *nad4L-atp8*. В данном участке находится открытая рамка считывания, кодирующая консервативный белок размером 259 аминокислот, с неизвестной функцией. Делеция 3,8 т.п.н. локализована в межгенном регионе *cob-cctFc* и не содержит кодирующих последовательностей ДНК. В этом же участке мтДНК обнаружена вставка размером около 7,5 т.п.н. Интересно отметить, что участок ДНК вблизи гена *cob* (190072-190336 п.н.) комплементарен еще двум участкам митохондриального генома (36536-36800, 202636-202900 п.н.). Этот факт может свидетельствовать о наличии в этой области мтДНК «горячей точки» рекомбинационных событий. Инсерция участка 5 т.п.н. локализована в некодирующей области генома между генами *atp6* и *cox2*. В результате проведенного биоинформатического анализа в данной вставке была обнаружена только одна (более 300 нуклеотидов) гипотетическая рамка считывания, кодирующая полипептид из 215 аминокислот. При этом 25 аминокислот данного полипептида комплементарны митохондриальному рибосомальному белку S3. Также в митохондриальном геноме ЦМС (РЕТ2) была обнаружена дупликация участка мтДНК размером около 5,5 т.п.н., локализованного между генами *atp6* и *cox2* (269,5 - 275 т.п.н.) с последующей транспозицией одной копии в межгенный регион *nad4L-atp8*. Большая часть транспозиции является некодирующей, однако ее 5'-фланкирующий район включает участок гена *atp6*.

мтДНК стерильной линии НА89 РЕТ2 также отличалась от мтДНК фертильного аналога наличием 87 мутаций – 16 SSR полиморфизмов, 6 инсерций (2-27 п.н.) и 65 SNP. Подавляющая часть изменений коснулась некодирующей части генома, за исключением 4-х SNP локализованных в гене rPHK, в промоторе гена *atp6* и в генах *rps4* и *atp6*.

Таким образом, исходя из полученных результатов, можно предположить, что причиной ЦМС типа РЕТ2 у линии НА89 подсолнечника является дупликация участка мтДНК размером около 5,5 т.п.н., локализованного между генами *atp6* и *cox2* (269,5 - 275 т.п.н.) с последующей транспозицией одной копии в межгенный регион *nad4L-atp8*, приводящая к возникновению химерного гена.

Результаты получены в рамках выполнения государственного задания Минобрнауки России, проект № 6.929.2017/4.6, на оборудование ЦКП «Высокие технологии» Южного федерального университета.

### Список литературы

1. Kazama T., Toriyama K. Whole Mitochondrial Genome Sequencing and Re-Examination of a Cytoplasmic Male Sterility-Associated Gene in Boro-Taichung-Type Cytoplasmic Male Sterile Rice // PLoS One. 2016. DOI:10.1371/journal.pone.0159379|.
2. Kohler R. H., Horn R., Lossl A., Zetsche K. Cytoplasmic male sterility in sunflower is correlated with the co-transcription of a new open reading frame with the *atpA* gene //Molecular & General Genetics. 1991. Vol. 227. P. 369-376.