

С.Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университетінің **Ғылым жаршысы** (пәнаралық) = **Вестник науки** Казахского агротехнического университета им. С.Сейфуллина (междисциплинарный). - 2019. - №3 (102). - С.92-100

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ АНАЛИЗ ОБРАЗЦОВ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ НА НАЛИЧИЕ ГЕНА УСТОЙЧИВОСТИ К ЦВЕТУШНОСТИ

*А.М. Абекова, Р.С. Ержебаева,
Ш.О. Бастаубаева, К.Т. Конысбеков*

Казахский научно-исследовательский институт земледелия и растениеводства

Аннотация

В данной статье рассмотрены проблемы цветущности у образцов сахарной свеклы коллекции гибридов и линий сахарной свеклы Казахского НИИ земледелия и растениеводства. Проанализированы научные работы, посвященные вопросам цветущности сахарной свеклы проведенные в мире и Казахстане. Выявлена и обоснована необходимость проведения данных исследований. Приведены результаты анализа образцов с использованием маркера CAU3903^b - являющегося специфическим для локуса BR1 на наличие гена цветущности. С помощью методов: DeLaporta (экстракция геномной ДНК из листьев), ПЦР – анализа, выявлено, что у 21 из 32 образцов сахарной свеклы с амплифицированным ДНК-фрагментом, размером 208 п.н. присутствует ген устойчивости к цветущности. Данные образцы являются как потенциальные источники для селекции, тем самым сокращая срок создания новых гибридов.

Ключевые слова: сахарная свекла, цветущность, ПЦР - анализ, ДНК, молекулярный маркер, праймер, ген, гибрид, аллель, электрофорез.

Введение

Сахарная свекла (*Beta vulgaris*) продовольственная и техническая культура. На ее долю приходится почти 30% мирового производства сахара в мире [1]. В результате переработки корнеплодов получают целлюлозу и мелассу, которые используют для кормления животных. По количеству кормовых единиц корнеплоды ее превосходят кормовую свеклу в 2,2 раза, а

турнепс – в 2,6 раз. При урожае корнеплодов 300 ц с 1 га сахарная свекла вместе с ботвой (150 ц) дает с 1га 10500 кормовых единиц, т.е. значительно больше, чем кукуруза при урожае 300 ц зеленой массы с початками (6750 кормовых единиц)[2].

Большое значение сахарная свекла имеет также в агротехническом отношении при

использовании в севооборотах. Ценность сахарной свеклы как предшественника для других культур зависит от почвенных и климатических условий. Последующие зерновые культуры используют почвоулучшающее и фитосанитарное положительное действие этого предшественника, дают более высокие урожаи [3].

В Казахстане сахарная свекла является единственной культурой, используемой, как основное сырье при производстве белого сахара. Министерство сельского хозяйства РК определила отрасль по выращиванию сахарной свеклы и производству сахара в числе приоритетных направлений развития сельского хозяйства Республики. По результатам финансовой поддержки государственной программы в виде субсидирования в РК площадь возделывания сахарной свеклы была увеличена с 1200 га в 2014 году и до 19 621 га в 2018 году, а валовый сбор с 23,9 тыс. тонн в 2014 году до 585.8 тыс. тонн в 2016 году.

Основными регионами выращивания сахарной свеклы являются Алматинская и Жамбылская области. В Государственной программе развития агропромышленного комплекса РК для обеспечения внутренних потребностей к 2121 году планируется увеличение объема производства сахарной свеклы до 1120 тыс. тонн [4]. Для увеличения площади возделывания и валового сбора сахарной свеклы необходимо продвижение этой культуры в северные регионы страны, однако в целом ряде регионов РК весной и осенью

складываются не благоприятные для сахарной свеклы погодные условия. Долгая затяжная весна, возвратные заморозки и ранняя осень.

Сахарная свекла имеет двулетний цикл развития и в первый год жизни не образует цветоносного побега. Однако при определенных условиях в посевах могут появляться цветущие растения, дающие генеративные органы («цветухи») в первый год вегетации. Цветущие растения образуют корнеплоды с пониженным содержанием сахара [5]. Вследствие частичного одревеснения сосудистой системы корнеплода и повышения содержания мелассообразующих веществ усложняются уборка и переработка корнеплодов, ухудшается их хранение. Цветущность полностью нежелательна для сельского хозяйства (в первый год), хотя это необходимо для производства семян (второго года). Выращивание сахарной свеклы от весны до зимнего урожая (в первый год), контроль за цветущностью является обязательным требованием [6].

Генетические, физиологические и агротехнические причины проявления цветущности изучались многими учеными [5, 6]. Причины цветущности могут быть внутренними (генетически обусловленными) и внешними (влияние температурного и светового режимов, минерального питания, гербицидов, повышенной влажности семян и других факторов). Из внешних факторов особенно индуцируют образование цветухи низкие температуры на ранних стадиях развития растений сахарной свеклы, так как в этот период

культура особенно чувствительна к воздействию пониженных температур. Длительные средние дневные температуры от 5 до 8°C способствуют образованию цветухи [5, 6].

Цветушность была обнаружена многими исследователями, в гетерозиготных растениях (B) при увеличении длины суток, это было вызвано рядом взаимодействующих генов, ответственных за фотоиндукцию цветущности [7].

Процитированные выше исследования, несомненно, указывают на полезность маркерного анализа в генетическом изучении цветочных тенденций в сахарной свекле [8]. Munerati O. [9] был первым, кто описал контроль ранней цветущности в локусе B, в коммерческом сорте сахарной свеклы. Позже было установлено, что ежегодная цветущность в дикой свекле (*B. Vulgaris ssp. Maritima L.*) контролируется *allele B*, который вызывает цветущность в условиях длительных дней без яровизации [10].

Длительные дни необходимы для гомозиготных (BB) растений, инициирующих устойчивость, они не показывают ежегодную цветущность в условиях короткого дня. Более сложное поведение было отмечено в гетерозиготных (Bb) растениях. Их цветущность сильно зависит от многих факторов. Для этого изучение молекулярных маркеров, тесно связанных с геном цветущности, является актуальным для проведения маркерной селекции.

Построение генетической карты высокой плотности для сахарной свеклы позволяет идентифицировать

маркеры, плотно связанные с локусами цветущности. Первая карта была основана Pillen K. et. al. [11] на RFLP и связана в морфологическом плане. В 1995 г. Varzen E. et. al. [12] была расширена генетическая карта с использованием дополнительных маркеров RFLP и RAPD. Позже 120 маркеров AFLP были интегрированы в эту карту Schondelmaier J. et. al. [13]. Отображение и идентификация агрономически важных генов были впервые установлены хромосомными картами сцепления сахарной свеклы с использованием RFLP - маркеров Varzen E. et. al. [14]. Ген B находился между маркерами rKP591 и rKP826 с соответствующими расстояниями 3,8 и 5,2 рекомбинационных единиц; четыре дополнительных маркера, расположенные в том же регионе, отображали большие расстояния. Линейный порядок локусов RFLP был идентичен в этом исследовании на карте группы связи I [15], который был впоследствии обозначен как хромосома II сахарной свеклы [16]. В работах El-Mezawy et. al. [17], было выделено 4 маркера AFLP, тесно связанных с локусом цветущности, которые могут использоваться для картографического клонирования генов цветущности.

Учеными Tränkner C. et. al [18] из Кельна (Германия) в 2016 г., был проведен детальный анализ локуса BR1 и предложен новый механизм для определения цветущности в сахарной свекле. Они определили благодаря моногенному наследованию локуса BR1, связанного с цветущностью устойчивого сорта ВЕТА 1773,

который может быть легко итрегессирован в зимние свекольные генотипы. Таким образом, локус BR1-специфический InDel для маркера CAU3903^b, позволит отобрать в потомстве в гомозиготных гибридах сахарной свеклы устойчивые образцы к цветущности. Изучение на молекулярном уровне на устойчивость к цветущности никем не изучалась в Казахстане.

Исследования по селекции и технологии возделывания сахарной свеклы в Казахстане начаты в 1934 году на базе Казахского НИИ земледелия. Изучены свекловичные севообороты на орошаемых землях Казахстана [19], налажена селекция [20], разработаны различные способы семеноводства [21,22], описаны болезни сахарной свеклы [23]. Ис-

следования в области оценки не цветущности сахарной свеклы не проводились.

Таким образом, краткий анализ имеющихся в литературе источников показывает, что контроль цветущности очень сложен. Для сокращения сроков создания гибридов сахарной свеклы устойчивых к цветущности (в первый год) необходим молекулярный контроль. В этой связи нами проведены исследования по выявлению наличия генов устойчивых к цветущности у образцов сахарной свеклы коллекции КазНИИ-ЗиР.

Целью исследований является идентификация коллекционных образцов сахарной свеклы по устойчивости к цветущности с использованием ДНК- маркеров.

Материалы и методика исследований

В качестве материала для идентификации гена устойчивости к цветущности использованы расте-

Методика исследований.

Экстракция геномной ДНК из листьев 10-15 дневных проростков сахарной свеклы проведена с использованием методики DeLaporta [24].

Качество выделенной ДНК проверено методом электрофореза в 1% агарозном геле в присутствии бромистого этидия. Для полимеразно-цепной реакции-анализа (ПЦР)

F-5¹- GTGATTATAATTGAACATATACCTG-3¹

R-5¹- GAGTTGTAAGTCATGAGGCAC-3¹

Для проведения ПЦР-анализ были следующие параметры амплификации:

- предварительная денатурация 94°C в течение 2-х минут;
- 34 цикла: 94°- 30 с; температура отжига 58°C- 30 с; 72°C- 30с;
- финальный этап элонгации цепи: 72°C- 5 мин.

ния гибридов сахарной свеклы коллекции отдела сахарной свеклы КазНИИЗиР (32 образца).

использована ДНК, растворенная в 10 mM Tris-HCl, pH 8.0, 1mM EDTA.

ПЦР-анализ проводили в амплификаторе «Eppendorf Mastercycler» (Германия). Маркер CAU3903^b - является специфическим для локуса BR₁ Идентификацию гена устойчивости к цветущности осуществляли с использованием маркера CAU3903^b, [4]:

Визуализацию ПЦР-продуктов амплификации проводили в 3 % агарозном геле, при 110V, 60 мин; окрашенных бромистым этидием, под воздействием УФ-лучей в гельдокументирующей камере QUANTUM ST 4 (Франция). В качестве маркеров молекулярных весов использовали GeneRuler 100br DNA Ladder («Thermo Scientific»).

Основные результаты исследований НИР

Проведен ПЦР-анализ на наличие гена цветущности у 32 образцов сахарной свеклы. Качество выделенной ДНК определяли электро-

форезом в 1%-ном агарозном геле (Рисунок 1). Качество было высоким и достаточным для дальнейшего проведения ПЦР-анализа.

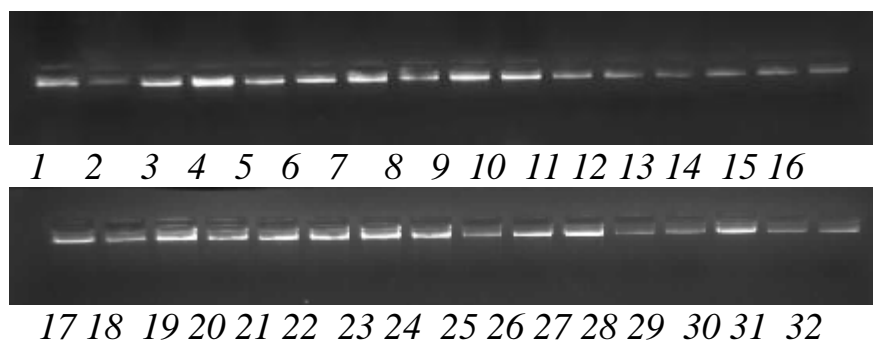
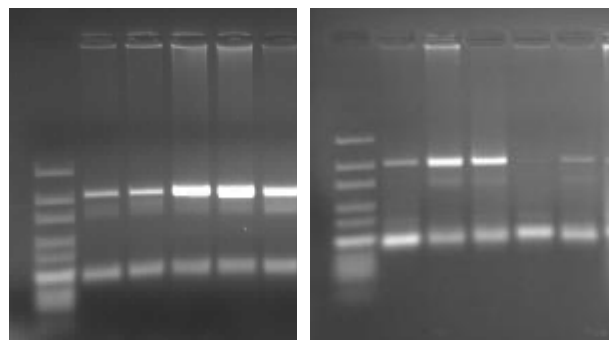


Рисунок 1 – Качество выделенных ДНК из зеленых листьев сахарной свеклы в 1-м % агарозном геле: 1.1002; 2.1005; 3.1017; 4.1042; 5.1082; 6.2115; 7.2125; 8.2154; 9.2172; 10.2182; 11.2190; 12.2210; 13.2217; 14.2236; 15.2261; 16.2262; 17.2263; 18.2281; 19.2282; 20.2286; 21.2296; 22. KWS2320; 23.1038; 24.2290; 25.2137; 26.Шекер; 27.2289; 28.ВЕТА 1773; 29.Киргизская 069; 30.Аксу; 31.2256; 32.2280.

Тестирование растений 32 образцов сахарной свеклы на наличие гена устойчивости к цветущности проводилось с использованием специфического праймера CAU3903^b, тесно сцепленного с локусом BR1. Контролем служил устойчивый к цветущности сорт ВЕТА 1773 (полученный из Генбанка (IPK) г. Гатерслебен, Германия).

М 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
 М- маркер 100 п.н.; 1. Контроль ВЕТА 1773; 2.1002; 3.1005; 4.2154; 5.2182; 6.2190; 7.2210; 8.2217; 9.2261; 10.2281

а



М 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21
 М- маркер 100 п.н.; 11. Контроль ВЕТА 1773; 12. 2282; 13.2286; 14.1017; 15.2296; 16.1038; 17. 2172; 18.2236; 19.2137; 20.2280; 21.Аксу

б

Рисунок 2 - Продукты амплификации ДНК образцов сахарной свеклы с использованием маркера CAU3903^b, сцепленного с локусом BR1

Проведенный ПЦР-анализ позволил установить, что у 21 образца тестируемых гибридов сахарной свеклы выявлены гены устойчивости

к цветущности (Рисунок 2) и присутствует характерный фрагмент размером 208 п.н. Полученные данные представлены в (Таблице 1).

Таблица 1 – Результаты исследования на наличие / отсутствие гена нецветущности в образцах сахарной свеклы

Маркер	Название образца									
	1002	1005	2154	2182	2190	2210	2217	2261	2281	2282
CAU 3903 ^b	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Маркер	2286	1017	2296	1038	2172	2236	2137	2280	Аксу	2262
CAU 3903 ^b	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-
Маркер	2263	KWS 2320	1042	2290	1082	Ше-кер	2289	ВЕТА 1773	Кир. 069	2115
CAU 3903 ^b	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-
Маркер	2256	2125								
CAU3903 ^b	-	-								

Примечание: + Наличие гена устойчивости к цветущности; - Отсутствие гена устойчивости к цветущности

Из таблицы 1, видно, что из 32-х образцов коллекции сахарной свеклы у 21 образца: 1002, 1005, 2154, 2182, 2190, 2210, 2217, 2261, 2281, 2282, 2286, 2296, 1038, 2137, 2280, Аксу, KWS 2320, Шекер, 2289, ВЕТА 1773, Кир.069 – выявлен ген устойчивости к цветущности. А у 11-ти образцов коллекции сахарной свеклы искомая аллель отсутствует:

1017, 2172, 2236, 2262, 2263, 1042, 2290, 1082, 2115, 2256, 2125.

Все образцы коллекции прошли экологическое испытание на северо-востоке РК в условиях научного стационара Павлодарской СХОС. Выделенные на основе молекулярного анализа образцы сахарной свеклы (21 образец) показали высокую устойчивость к цветущности.

Обсуждение полученных данных и заключение

Проведенные исследования по тестированию 32-х образцов сахарной свеклы коллекции с использованием специфического праймера

CAU3903^b F/R позволили выявить 21 образец с амплифицированным ДНК-фрагментом, размером 208 п.н., тесно сцепленным с локусом

BR1, контролирующим устойчивостью к цветущности. Данные образцы выделены как устойчивые к цветущности.

Представленные исследования являются поисковыми и будут продолжены в плане увеличения количества изучаемого материала и расширения количества молекулярных маркеров. Эти работы имеют как

теоретическое, так и практическое значение, так как способствуют расширению молекулярно-генетических знаний об устойчивости селекционного материала сахарной свеклы и позволяют отбирать для селекции потенциальные источники устойчивые к цветущности, тем самым сокращая срок создания новых гибридов.

Список литературы

1 Официальный сайт ФАО. Продовольственной и сельскохозяйственной организации Объединенных Наций [Электрон. ресурс]. - 2015. - URL: <http://faostat.fao.org>. (дата обращения: 13.05.2019).

2 Официальная статистическая информация по отраслям [Электрон. ресурс]. – 2018. - URL: <http://www.stat.gov.kz>. (дата обращения: 13.05.2019).

3 Растениеводство. Технические культуры / Сахарная свекла [Электрон. ресурс]. - 2013. - URL: <https://agrosbornik.ru/texnicheskie-kultury/110-saxarnaya-svekla/1470-texnologiya-vozdelyvaniya-mesto-saxarnoj-svekly-v-sevooborote.html> (дата обращения: 13.05.2019).

4 Государственная программа развития агропромышленного комплекса РК на 2017-2021 годы [Электрон. ресурс]. - 2017. - URL: <http://mgov.kz/ru/azastan-respublikasyny-a-k-damytydy-2017-2021-zhyldar-a-arnal-an-memlekettik-badaramasy> (дата обращения: 13.05.2019).

5 Болелова З. А., Тихонова В. Г., Лещенко Е. В. О генотипических и физиологических особенностях признака цветущности у растений сахарной свеклы. С.-х. биология. - 1984. - №10. - С. 95-99.

6 Буренин В. И., Кочнева В. Н., Щеголева М. И. О цветущности свеклы // Тр. по прикл. бот., ген. и сел., 1979. Т.65. Вып.1. С. 19-26.

7 Корниенко А. В., Буторина А. К., Сухоруких В. А., Бердников Р. В., Моргун А. В., Труш С. Г, Манько А. А. Концепция развития селекции сельскохозяйственных растений на устойчивость к био и абиотическим факторам в Российской Федерации на период до 2020 года. – Воронеж: Воронежский ЦНТИ – филиал ФГКУ «РЭА» Минэнерго России, 2012. – 222 с.

8 Pfeiffer N., Tränkner C., Lemnian, I. et al. Genetic analysis of bolting after winter in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) // Theor Appl Genet [Электрон. ресурс]. – 2014. – URL: <https://doi.org/10.1007/s00122-014-2392-x/> (дата обращения: 13.05.2019).

9 Munerati O. L'eredità della tendenza all'annualità nella comune barbabietola coltivata. Z. Pflanzenzücht 17. – 1931, p.84–89.

- 10 Effie S. Mutasa-Gottgens, Aiming Qi, Wenying Zhang, Gretel Schulze-Buxloh, Andrea Jennings, Uwe Hohmann, Andreas E. Muller and Peter Hedden. "Bolting and Flowering Control in Sugar Beet: Relationships and Effects of Gibberellin, the Bolting Gene *B* and Vernalization." *AoB Plants* 2010 (2010): PMC. Web. 9 Sept. 2017 [Электрон. ресурс]. – 2017. – URL: doi:10.1093/aobpla/plq012. <https://doi.org/10.1007/s00122-014-2392-x/> (дата обращения: 13.05.2019).
- 11 Pillen K, Steinrücken G, Wricke G, Herrmann RG, Jung C. A linkage map of sugar beet (*Beta vulgaris* L). *Theor Appl Genet* 84. – 1992, p.129–135
- 12 Barzen E, Melchelke W, Ritter E, Schulte-Kappert E, Salamini F. An extended map of the sugar beet genome containing RFLP and RAPD loci. *Theor Appl Genet* 90. – 1995, p.189–193.
- 13 Schondelmaier J, Steinrücken G, Jung C. Integration of AFLP markers into a linkage map of sugar beet (*Beta vulgaris*L). *Plant Breed* 115. – 1996, p. 231–237.
- 14 Barzen E, Mechelke W, Ritter E, Seitzer J. F, Salamini F (1992) RFLP markers for sugar beet breeding – chromosomal linkage maps and location of major genes for rhizomania resistance, monogerm and hypocotyl color. *Plant J* 2. – 1992, p. 601–611.
- 15 Jun Abe, Guo-Ping Guan & Yoshiya Shimamoto. A gene complex for annual habit in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Euphytica* 94. – 1997, p.129–135.
- 16 Schondelmaier J, Jung C. Chromosomal assignment of the nine linkage groups of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) using primary trisomics. *Theor Appl Genet* 95. - 1997, p. 590–596.
- 17 El-Mezawy, F. Dreyer, G. Jacobs, C. Jung. High-resolution mapping of the bolting gene *B* of sugar beet. - *Theor Appl Genet*. 105. p. 100–105. – 2002 [Электрон. ресурс]. - 2002. -- URL: DOI 10.1007/s00122-001-0859-z., <https://doi.org/10.1007/s00122-014-2392-x/> (дата обращения: 13.05.2019).
- 18 Conny Tränkner, Ioana M. Lemnian, Nazgol Emrani, Nina Pfeiffer, Surya P. Tiwari, Friedrich J. Kopisch-Obuch, Sebastian H. Vogt, Andreas E. Müller, Markus Schilhabel, Christian Jung and Ivo Grosse. A Detailed Analysis of the *BR₁* Locus Suggests a New Mechanism for Bolting after Winter in Sugar Beet (*Beta vulgaris* L.). *Front. Plant Sci.*, p. 1-12 [Электрон. ресурс]. - 14 November 2016. – URL: <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01662>. (дата обращения 13.05.19).
- 19 Ажигоев П. К. // Сахарная свекла в Казахстане. Алма-Ата, "Кайнар", 1965, с.293-297.
- 20 Конысбеков К. Т., Чабдарбаев Т. К., Байоразов А. О., Малецкий С. И., Малецкая Е. И. Сегрегация по РЦ-СЦ признаку в апозиготических потомствах гибридов сахарной свеклы. // Вестник с.-х. науки Казахстана. -2009. -№12. - С.17-20.
- 21 Конысбеков К. Т., Бастаубаева Ш. О., Малецкая Е. И., Малецкий С. И., Позняк С. И. Апозиготический способ размножения семян пыльцестерильных растений сахарной свеклы // *АгроӘлем*. – 2015. – С.36-38.

22 Марат Карибаевич Кожаметов Научные основы безвысадочного семеноводства и клонального размножения сахарной свеклы в Казахстане. Специальность 06.01.05 - Селекция и семеноводство: автореф. дис. на соиск. ученой степ. д-ра с/х наук / - Алмалыбак, 1999. - 52 с.

23 Maui A., Urazaliev K., Abekova A. Diseases of sugar beet in Kazakhstan In book: Agricultural research updates. – New York: Nova publishers, 2015. - Vol. 12, Chapter 9. – P.143-171.

24 DeLaporta S.L., Wood J., Hicks J. B. A plant DNA minipreparation. Version II // Plant Mol. Biol. Rep. – 1983. – V.4. - P.19-21.

References

1 *Ofitsial'nyy sayt FAO. Prodovol'stvennoy i sel'skokhozyaystvennoy organizatsii Ob"edinennykh Natsiy.* [FAO official website. Food and Agriculture] [Electron. resource]. - 2015. URL: <http://faostat.fao.org> (accessed 13.05.2019).

2 *Ofitsial'naya statisticheskaya informatsiya po otraslyam* [Official statistical information by industries] [Electron. resource]. - 2018. URL: <http://www.stat.gov.kz> (accessed 13.05.2019).

3 *Rasteniyevodstvo. Tekhnicheskie kul'tury / Sakharnaya svekla.* [Crop production. Industrial crops / Sugar beet] [Electron. resource]. - 2013. URL: <https://agrosbornik.ru/texnicheskie-kul'tury/110-saxarnaya-svekla/1470-texnologiya-vozdelyvaniya-mesto-saxarnoj-svekly-v-sevooborote.html> (accessed 13.05.2019).

4 *Gosudarstvennaya programma razvitiya agropromyshlennogo kompleksa RK na 2017-2021 gody.* [State program for the development of the agro-industrial complex of the Republic of Kazakhstan] [Electron. resource]. - 2017. URL: <http://mgov.kz/ru/aza-stan-respublikasyny-a-k-damytydy-2017-2021-zhyldar-a-arnalan-memlekettik-ba-darlamasy> (accessed 13.05.2019).

5 Bolelova Z.A., Tikhonova V.G., Leshchenko E.V. *O genotipicheskikh i fiziologicheskikh osobennostyakh priznaka tsvetushnosti u rasteniy sakharnoy svekly.* [On the genotypic and physiological features of the characteristic bolting in sugar beet plants] S.-kh. Biologiya, 1984, no.10, pp. 95-99.

6 Burenin V. I., Kochneva V. N., Shchegoleva M. I. *O tsvetushnosti svekly* [About beet bolting]. Tr. po prikl. bot., gen. i sel., 1979, T.65. Iss.1, pp. 19-26.

7 Kornienko A. V., Butorina A. K., Sukhorukikh V. A., Berdnikov R. V., Morgun A. V., Trush S. G, Man'ko A. A. *Kontseptsiya razvitiya selektsii sel'skokhozyaystvennykh rasteniy na ustoychivost' k bio i abioticheskim faktoram v Rossiyskoy Federatsii na period do 2020 goda.* [The concept of development of the selection of agricultural plants for resistance to bio and abiotic factors in the Russian Federation for the period up to 2020]. Voronezh: Voronezhskiy TsNTI – filial FGKU «REA» Minenergo Rossii, 2012, p. 222.

8 Pfeiffer N., Tränkner C., Lemnian, I. et al. Genetic analysis of bolting after winter in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) Theor Appl Genet [Electron. resource]. - 2014. URL: <https://doi.org/10.1007/s00122-014-2392-x/> (accessed 13.05.2019).

9 Munerati O. L'eredità della tendenza all'annualità nella comune barba-bietola coltivata. Z. Pflanzenzücht 17. 1931, pp.84–89.

10 Effie S. Mutasa-Gottgens, Aiming Qi, Wenyong Zhang, Gretel Schulze-Buxloh, Andrea Jennings, Uwe Hohmann, Andreas E. Muller and Peter Hedden. "Bolting and Flowering Control in Sugar Beet: Relationships and Effects of Gibberellin, the Bolting Gene *B* and Vernalization." AoB Plants 2010 (2010): PMC [Electron. resource]. - Web. 9 Sept. 2017. - URL: doi:10.1093/aobpla/plq012. <https://doi.org/10.1007/s00122-014-2392-x/> (accessed 13.05.2019).

11 Pillen K, Steinrücken G, Wricke G, Herrmann RG, Jung C. A linkage map of sugar beet (*Beta vulgaris*L). Theor Appl Genet 84. 1992, pp.129–135

12 Barzen E, Melchelke W, Ritter E, Schulte-Kappert E, Salamini F. An extended map of the sugar beet genome containing RFLP and RAPD loci. Theor Appl Genet 90. 1995, pp.189–193.

13 Schondelmaier J, Steinrücken G, Jung C. Integration of AFLP markers into a linkage map of sugar beet (*Beta vulgaris*L). Plant Breed 115. 1996, pp. 231–237.

14 Barzen E, Mechelke W, Ritter E, Seitzer JF, Salamini F. RFLP markers for sugar beet breeding – chromosomal linkage maps and location of major genes for rhizomania resistance, monogerm and hypocotyl color. Plant J 2. 1992, pp. 601–611.

15 Jun Abe, Guo-Ping Guan & Yoshiya Shimamoto. A gene complex for annual habit in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). Euphytica 94. 1997, pp.129–135.

16 Schondelmaier J, Jung C. Chromosomal assignment of the nine linkage groups of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) using primary trisomics. Theor Appl Genet 95. 1997, pp. 590–596.

17 El-Mezawy, F. Dreyer, G. Jacobs, C. Jung. High-resolution mapping of the bolting gene *B* of sugar beet. Theor Appl Genet. pp. 100–105 [Electron. resource]. - 2002. - URL: DOI 10.1007/s00122-001-0859-z., <https://doi.org/10.1007/s00122-014-2392-x/> (accessed 13.05.2019).

18 Conny Tränkner, Ioana M. Lemnian, Nazgol Emrani, Nina Pfeiffer, Surya P. Tiwari, Friedrich J. Kopisch-Obuch, Sebastian H. Vogt, Andreas E. Müller, Markus Schilhabel, Christian Jung and Ivo Grosse. A Detailed Analysis of the *BR₁* Locus Suggests a New Mechanism for Bolting after Winter in Sugar Beet (*Beta vulgaris* L.). Front. Plant Sci., pp. 1-12 [Electron. resource]. - 14 November 2016. URL: <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01662> (accessed 13.05.19).

19 Azhigoev P.K. *Sakharnaya svekla v Kazakhstane*. [Sugar beet in Kazakhstan]. Alma-Ata, "Kaynar", 1965, pp.293-297.

20 Konysbekov K.T., Chabdarbaev T.K., Bayorazov A. O., Maletskiy S. I., Maletskaya E. I. *Segregatsiya po RTs-STs priznaku v apozigoticheskikh potomstvakh gibridov sakharnoy svekly*. [The segregation of the RC-SC characteristic in the apozygotic progeny of sugar beet hybrids]. Vestnik s.-kh. nauki Kazakhstana. 2009. no. 12, pp.17-20.

21 Konysbekov K. T., Bastaubaeva Sh. O., Maletskaya E. I., Maletskiy S. I., Poznyak S. I. *Apozigoticheskiy sposob razmnozheniya semyan pyl'tsesteril'nykh rasteniy sakharnoy svekly*. [Apozygous method of propagation of seeds of pollen-sterile sugar beet plants]. *AgroӘlem*. 2015, pp.36-38.

22 Marat Karibaevich Kozhakhmetov. *Nauchnye osnovy bezvysadochnogo semenovodstva i klonal'nogo razmnozheniya sakharnoy svekly v Kazakhstane*. [Scientific basis of nonstop seed production and clonal reproduction of sugar beet in Kazakhstan]. *Spetsial'nost' 06.01.05, Seleksiya i semenovodstvo: avtoref. dis. na soisk.uchenoy step. d-ra s-kh nauk, Almalybak, 1999, p. 52.*

23 Maui A., Urazaliev K., Abekova A. Diseases of sugar beet in Kazakhstan, *Agricultural research updates*. New York: Nova publishers, 2015. vol. 12, chapter 9. pp.143-171.

24 DeLaporta S.L., Wood J., Hicks J. B. A plant DNA minipreparation. Version II. *Plant Mol. Biol. Rep.* 1983, vol. 4. pp.19-21.

ҚАНТ ҚЫЗЫЛШАСЫ ҮЛГІЛЕРІНІҢ ГҮЛДЕНУГЕ ЖАУАП БЕРЕТІНТ ӨЗІМДІЛІК ГЕНІНЕ МОЛЕКУЛАЛЫҚ ТАЛДАУ

*А.М., Абекова, Р.С. Ержебаева,
Ш.О. Бастаубаева, Қ.Т. Қонысбеков
Қазақ Егіншілік және Өсімдік шаруашылығы Ғылыми-Зерттеу
Институты*

ТҮЙІН

Бұл мақалада Қазақ Егіншілік және Өсімдік шаруашылығы Ғылыми-Зерттеу Институтының қант қызылшасы гибридтерінің коллекциясы мен үлгілеріндегі гүлдену мәселесі қарастырылған. Әлемдегі және Қазақстандағы қант қызылшасының гүлдену мәселесіне арналған ғылыми жұмыстарға талдау жасалынды. Осы зерттеулерді жүргізудің қажеттілігі нақтыланып анықталды. Гүлдену генінің бар немесе жоқ екендігін анықтайтын BR1 локусы үшін спецификалық болып табылатын CAU3903^b маркерін қолдану арқылы үлгілерге жасалған талдау нәтижесі келтірілген. DeLaporta (жапырақтарынан геномдық ДНҚ экстракциясы), ПТР – талдау әдістерінің көмегімен, амплифицирленген ДНҚ-фрагменті бар қант қызылшасының 32 үлгісінің 21-де, мөлшері 208 жұп нуклеотид болатын гүлденуге тұрақтылық гені бар екендігі анықталды. Бұл үлгілер жаңа гибридтерді жасау уақытын қысқартып, селекцияның негізгі көзі ретінде анықталды.

Кілттік сөздер: қант қызылшасы, гүлдену, ПТР - талдау, ДНҚ,

MOLECULAR ANALYSIS OF SUGAR BEET SAMPLES FOR THE PRESENCE OF A RESISTANCE GENE TO BOLTING

*A.M. Abekova, R.S., Yerzhebayeva,
Sh.O. Bastaubayeva, K.T. Konysbekov
Kazakh Scientific Research Institute of Agriculture and Plant Growing*

SUMMARY

In this article, bolting problems in sugar beet collection hybrids and lines of Kazakh Scientific Research Institute of Agriculture and Plant Growing were studied. The scientific works related to the issues of sugar beet bolting conducted in the world and Kazakhstan were analyzed. The needs for these studies were identified and justified. The results of the analysis of samples using the marker CAU3903^b which is specific to the BR1 locus corresponding to the presence of the bolting gene. Using methods: DeLaporta (extraction of genomic DNA from the leaves), PCR analysis revealed that the 21 samples out of 32 of sugar-beet with amplified DNA fragment size of 208 bp have a resistance gene to bolting. This 21 samples are recommended to breeders as a genetic source for further breeding work in order to shorten the time to develop new hybrids.

Keywords: sugar beet, bolting, PCR - analysis, DNA, molecular marker, primer, gene, hybrid, allele, electrophoresis.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Республики Казахстан в рамках программы грантового финансирования на 2018- 2020 гг. (грант в рамках бюджетной программы 217 "Развитие науки", подпрограмме 102 "Грантовое финансирование научных исследований", по приоритету "Устойчивое развитие агропромышленного комплекса и безопасность сельскохозяйственной продукции", теме: ИРН AP05131605 "Создание холодостойких и нецветушных образцов сахарной свеклы биотехнологическими и селекционными методами для северных регионов Казахстана").

Благодарность Выражаем свою благодарность за методическую помощь ученым:

Корниенко А. В.¹ – член-корреспонденту Россельхозакадемии, заведующему лабораторией селекции сахарной свеклы на фертильной основе, он работает в науке 49 лет, автор 350 научных работ, в том числе 27 книг, монографий и брошюр, в том числе книги "Селекция и генетика сахарной свёклы"; Федуловой Т. П.¹ – доктору биологических наук, заведующей лабораторией

биохимии и молекулярной биологии, Налбандян А. А.¹ к.б.н. научному сотруднику лаборатории биохимии и молекулярной биологии.

1-Федеральное Государственное бюджетное научное учреждение "Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свёклы и сахара имени А. Л. Мазлумова"