

АЛЕЛІ МАРКЕРІВ ВАЖЛИВИХ ГЕНІВ

стійкості у пшениці ярії м'якої (*Triticum aestivum* L.) української селекції

Дослідили 26 сортів пшениці ярії української селекції за допомогою молекулярно-генетичних маркерів важливих генів, асоційованих зі стійкістю до біотрофних та некротрофних фітопатогенів. Визначили присутність пов'язаних зі стійкістю алелів маркерів обраних генів, зокрема рідкісний серед українських сортів алель маркера гена *Sr2/Lr27/Pbc* помірної стійкості проти всіх рас стеблової іржі. Сорти пшениці ярії м'якої української селекції можуть слугувати джерелом досліджених типів стійкості для подальшої селекції.

пшениця м'яка яра, молекулярні маркери, гени стійкості, фітопатогени

Пшениця м'яка яра в Україні є важливою і перспективною сільськогосподарською культурою. Площі її посівів зросли від 195 тис. га в 2011 р. [1] до 258 тис. га — у 2013 [2]. Згідно з міжнародною базою даних деякі українські сорти ярії пшениці були створені за участі важливих світових сортів, що несуть гени стійкості проти небезпечних фітопатогенів [3]. Проте досліджень наявності цих генів за допомогою молекулярно-генетичних методів досі не проведено.

Для дослідження нами були обрані молекулярні маркери генів стійкості проти хвороб *Lr34/Yr18/Pm38/Sr57/Bdv1*, *Sr2/Lr27/Pbc* та *Tsn1*.

Ген *Lr34/Yr18/Pm38/Sr57/Bdv1* забезпечує «дорослу» помірну расо-неспецифічну стійкість проти хвороб, викликаних біотрофними фітопатогенами: бурої іржі (збудник — гриб *Puccinia triticina* Erikss.) жовтої іржі (збудник — гриб *P. striiformis* Westend. f. sp. *tritici*), борошністої роси (збудник — гриб *Blumeria graminis* (DC.) E.O. Speer f. sp. *tritici*), стеблової іржі (збудник — гриб *P. graminis* Pers.) та жовтої карликовості ячменю (збудник — відповідний вірус) [4]. Ген картовано на короткому плечі хромосоми 7D та секвеновано, він кодує касетний АТФ-зв'язуючий транспортер; на основі отриманого сиквенсу визна-

А.В. КАРЕЛОВ,
науковий співробітник

Н.О. КОЗУБ,
кандидат біологічних наук,
завідуюча лабораторією

І.О. СОЗІНОВ,
старший науковий співробітник
Інститут захисту рослин НААН

О.І. СОЗІНОВА,
студентка
біологічного факультету Національного
університету імені Т.Г. Шевченка

Я.Б. БЛЮМ,
професор, доктор біологічних наук,
академік НАН України
Державна установа «Інститут харчової
біотехнології та геноміки НААН»

чено молекулярні маркери алельних станів гена та пов'язаної зі стійкістю ділянки хромосоми між ним і геном, що кодує перший цитохром P450 [5].

Ген *Sr2/Lr27/Pbc* було перенесено в пшеницю від сорту полби-однозернянки Ярослав у 20-х роках ХХ сторіччя пізніше локалізовано на короткому плечі хромосоми 3В [4, 6]. Окрім помірної «дорослої» стійкості проти всіх рас стеблової іржі, включаючи раси Ug99, даний ген асоціюють із расоспецифічною ювенільною стійкістю проти бурої іржі, толерантністю до борошністої роси та фенотиповою ознакою характерного почорніння соломини [4]. Створено бактеріальний клон ділянки, характерної для сорту 'Норе', на основі якого запропоновано молекулярний маркер стійкості за *Sr2*-типом [6].

Ген *Tsn1* асоціюють із чутливістю до токсинів А некротрофних грибних фітопатогенів *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) та *Stagonospora nodorum* (Berk.) E. Castell. & Germano (далі — Ptr ToxA та SnToxA) [4, 7]. Ці токсини білкової природи викликають некроз у чутливих рослин пшениці за рахунок індукування клітинної смерті [8]. Локус картовано на довгому плечі хромосоми

5В [4, 9], секвеновано ген-кандидат *Tsn1*, на основі отриманого сиквенсу запропоновано маркерну ділянку у п'ятому інтроні локусу для діагностики алельних станів гена [9].

Метою роботи була характеристика сортів ярії м'якої пшениці української селекції за допомогою молекулярних маркерів важливих генів, асоційованих зі стійкістю проти небезпечних фітопатогенів.

Методи та матеріали. Для дослідження обрано 26 сортів української селекції, які мають у родо-водах джерела стійкості згідно з міжнародною базою даних (табл.) [3]. Виділяли ДНК із відібраної наважки масою 20—30 мг, одержаної шляхом подрібнення 5-ти насінин, за допомогою набору Diatom™ DNA Prep100 за стандартною методикою. ПЛР проводили на ампліфікаторі 2720 GeneAMP System, наборами GenPak® PCR Core, за методикою виробника. Використали праймери, що фланкують маркери *caISBP1* та *caSNP12* гена *Lr34/Yr18/Pm38/Sr57/Bdv1* у мультиплексній ПЛР [5], умови реакції модифіковано [10]. Далі алель маркерів, пов'язаний зі стійкістю, позначено Lr34+, алель, пов'язаний із чутливістю, — Lr34- [5, 10]. Використали праймери, що фланкують маркер *csSr2* гена *Sr2/Lr27/Pbc*, далі алель 'Норе' маркера, пов'язаний зі стійкістю в 100% випадків, позначили як Н, алель 'Marquis' маркера, пов'язаний зі стійкістю в 5% випадків, позначили М, алель маркера, пов'язаний з чутливістю, позначили Null [6, 10]. Використали праймери, що фланкують маркер *fcy623* гена *Tsn1*, далі алель маркера, що відповідає чутливості до токсину, позначили як Ts, алель маркера, що відповідає нечутливості, позначили як tr [9, 11]. Ампліфіковані фрагменти, отримані в результаті ПЛР, розділяли в 2% агарозному гелі та однократному трис-боратному буфері та візуалізували шляхом забарвлення бромистим етидієм.

Результати і обговорення. Результати алельних станів кожного з

маркерів для досліджених сортів наведені в таблиці. З даних таблиці для 88% досліджених сортів характерний алель Lr34- маркерів. Сорти Миронівська 3, Херсонська 183, Харківська 4 виявилися поліморфними за маркерами *caISBP1* та *caSNP12*. Це вказує на те, що в процесі селекції пшениці ярої принаймні для частини цих сортів відібрались інші гени, що забезпечують стійкість проти різних видів іржі, борошнистої роси та жовтої карликовості ячменю. Ці співвідношення відрізняються від одержаних нами раніше даних для сортів пшениці озимої, для якої алель Lr34+ було визначено більше ніж у половини сортів [10, 12]. Також у 88% досліджених сортів визначили алель tr; це співвідношення більше, ніж для озимих сортів [11] і вказує на значний селекційний тиск проти алелю, що забезпечує чутливість до токсинів А. У 84% досліджених сортів було визначено алель M маркера *csSr2*. Однак у двох сортів, а саме у Харківської 6 та Харківської 12 визначено алель H, асоційований зі стійкістю за *Sr2*-типом у 100% випадків. В досліджених раніше сортах пшениці озимої нами цього алелю знайдено не було [10, 13]. Згідно з міжнародною базою даних сорт Харківська 6 одержано з ліній від схрещування сорту 'Selkirk', у якого визначено алель H маркера й стійкість за *Sr2*-типом, та лінії 'PPG56'; сорт Харківська 12 відібрано з ліній, одержаних від схрещування сорту Харківська 6 із Луганською 4 [3]. Однак сорт Харківська 6 та 'Selkirk' значиться в родоводах інших досліджених сортів, у яких, проте, визначили алель M. Це може свідчити про мутацію маркерної ділянки або про селективний тиск проти відбору гена *Sr2/Lr27/*

Pbc в умовах створення досліджених сортів, у яких визначили алель M.

Отже досліджені сорти можуть бути джерелом нечутливості до Ptg ToxA та SnToxA та помірної стійкості проти всіх рас стеблової іржі за *Sr2*-типом.

ЛІТЕРАТУРА

1. Аграрії України засіяли ранніми яровими 2,2 млн га, або 55% прогнозу (УНІАН) [електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://economics.unian.ua/agro/481500-agrariji-ukrajini-zasiyali-rannimi-yarovimi-22-mln-ga-abo-55-prognozu.html>.
2. Перспективи виробництва зернових культур в Україні в 2013 р. (АПК-Інформ) [електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://svitagro.com/perspektivi-virobnictva-zernovih-kultur-v-ukrayini-v-2013-roci>
3. Genetic resources information system for wheat and triticale: database [електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://wheatpedigree.net/>
4. Catalogue of gene symbols for wheat (2012) by R.A. McIntosh, Y. Yamazaki, J. Dubcovsky, et al. [електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/download.jsp>
5. Gene-specific markers for the wheat gene *Lr34/Yr18/Pm38* which confers resistance to multiple fungal pathogens / E.S. Lagudah, S.G. Krattinger, S. Herrera-Foessel, et al. // Theoretical and Applied Genetics. — 2009. — Vol. 119, N 5. — P. 89—898.
6. An accurate DNA marker assay for stem rust resistance gene *Sr2* in wheat / R. Mago, G. Brown-Guedira, S. Dreisigacker, et al. // Theor. Appl. Genet. — 2011. — Vol. 122. — P. 735—744.
7. The *Tsn1-ToxA* interaction in the wheat *Stagonospora nodorum* pathosystem parallels that of the wheat-tan spot system / Z.H. Liu, T.L. Friesen, H. Ling et al. // Genome. — 2006. — Vol. 49. — P. 1265—1273.
8. The identification of two new races of *Pyrenophora tritici-repentis* from the host center of diversity confirms a one-to-one relationship in tan spot of wheat / L. Lamari, S.E. Strelkov, A. Yahyaoui et al. // Phytopathology. — 2003. — Vol. 93. — P. 391—396.
9. A unique wheat disease resistance-like gene governs effector-triggered susceptibility to necrotrophic pathogens / J.D. Faris, Z. Zhang, H. Lu // Proceedings of the National Academy

of Sciences of the United States of America. — 2010. — Vol. 107. — P. 13544—13549.

10. Характеристика українських сортів м'якої пшениці (*Triticum aestivum* L.) за допомогою новітніх молекулярних маркерів генів помірної стійкості проти іржастих грибів / А.В. Карелов, Н.О. Козуб, І.О. Созінов, О.О. Созінов // Захист і карантин рослин. — 2013. — Вип. 59. — С. 128—137.

11. Алельний стан маркерів гена, асоційованого із чутливістю щодо токсину А. *Pyrenophora tritici-repentis* і *Stagonospora nodorum*, серед сортів м'якої пшениці степової зони України / А.В. Карелов, Н.О. Козуб, І.О. Созінов, О.О. Созінов, Я.Б. Блюм // Захист і карантин рослин. — 2014. — Вип. 60 — С. 106—113.

12. Идентификация аллельного состояния гена устойчивости к бурой ржавчине *Lr34* у сортов озимой мягкой пшеницы украинской селекции / А.В. Карелов, Я.В. Пирко, Н.А. Козуб и др. // Цитология и генетика. — 2011. — Т. 45, №5. — С. 3—10.

13. Анализ встречаемости генов *Sr2* и *SrCad* в сортах озимой мягкой пшеницы миронивской селекции / Я.В. Пирко, А.В. Карелов, Н.А. Козуб и др. // Фактори експериментальної еволюції організмів: зб. наук. пр. / НАН України, НААН України, НАМН України, Укр. т-во генетиків і селекціонерів ім. М.І. Вавилова. — Т. 3. — 2012.

Карелов А.В., Созінова О.І., Козуб Н.А., Созінов І.О., Блюм Я.Б.

Аллельное состояние молекулярных маркеров важных генов устойчивости среди сортов пшеницы яровой мягкой (*Triticum aestivum* L.) украинской селекции

Исследовали 26 сортов пшеницы мягкой яровой украинской селекции при помощи молекулярно-генетических маркеров важных генов, ассоциированных с устойчивостью к биотрофным и некротрофным фитопатогенам. Определили присутствие связанных с устойчивостью аллелей маркеров выбранных генов, в частности редкую среди украинских сортов аллель маркера гена *Sr2/Lr27/Pbc* умеренной устойчивости ко всем расам стеблевой ржавчины. Сорта яровой пшеницы украинской селекции могут служить источником исследованных типов устойчивости для дальнейшей селекции.

пшеница мягкая яровая, молекулярные маркеры, гены устойчивости, фитопатогены

Karelov A.V., Sozinova O.I., Kozub N.A., Sozinov I.O., Blume Ya.B.

Allelic state of the molecular genetic markers of important resistance genes among the cultivars of soft spring wheat (*Triticum aestivum* L.) of Ukrainian breeding

Twenty six spring common wheat cultivars of Ukrainian breeding were studied using molecular genetic markers of important genes, associated with resistance against biotrophic and necrotrophic phytopathogens. The presence of linked to the resistance alleles of the markers chosen genes was discovered, in particular the rare among the Ukrainian cultivars allele of the marker of the *Sr2/Lr27/Pbc* gene conferring resistance against all races of stem rust. Ukrainian spring common wheat cultivars may be the sources of the studied types of resistance for further breeding.

soft spring wheat, molecular markers, resistance genes, phytopathogens

Алельні стани маркерів у досліджених сортах

Назва сорту	Алель маркера <i>fcP623</i>	Алель маркера <i>csSr2</i>	Алель маркерів <i>caISBP1</i> і <i>caSNP12</i>	Назва сорту	Алель маркера <i>fcP623</i>	Алель маркера <i>csSr2</i>	Алель маркерів <i>caISBP1</i> і <i>caSNP12</i>
Київська 77	Ts	M	Lr34-	Харківська 24	tr	M	Lr34-
Колективна 1	tr	M	Lr34-	Харківська 26	tr	M	Lr34-
Колективна 2	tr	M	Lr34-	Харківська 28	tr	M	Lr34-
Колективна 5	tr	M	Lr34-	Харківська 30	tr	Null	Lr34-
Комсомольська 29	Ts	M	Lr34-	Харківська 10	tr	M	Lr34-
Миронівська 3	tr	M	Lr34+	Харківська 12	tr	H	Lr34-
Миронівська 4	tr	M	Lr34-	Харківська 14	tr	M	Lr34-
Миронівська крупнозерниста	tr	M	Lr34-	Харківська 2	tr	M	Lr34-
Мирославна	tr	M	Lr34-	Харківська 4	tr	M	п-м
Скороспілка 94	tr	M	Lr34-	Харківська 6	tr	H	Lr34-
Струна миронівська	tr	M	Lr34-	Херсонська 183	tr	M	Lr34+
Харківська 18	tr	M	Lr34-	Елегія	Ts	Null	Lr34-
Харківська 22	tr	M	Lr34-	Егюд	tr	M	Lr34-