

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ВЫЯВЛЕНИЯ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ К ГРИБНЫМ ПАТОГЕНАМ В ГЕНОМЕ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM AESTIVUM* L.)

Урбанович О.Ю., Малышев С.В., Долматович Т.В., Картель Н.А.

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь,
O.Urbanovich@igc.bas-net.by

Введение. Защита сельскохозяйственных культур от заболеваний – один из важнейших аспектов технологии их возделывания. Для защиты растений от патогенов используется широкий спектр химических препаратов. Они предотвращают потери урожая, но при этом могут загрязнять окружающую среду. Наиболее экологически безопасным способом защиты растений от болезней является выращивание сортов, обладающих естественной устойчивостью если не ко всем, то хотя бы к части заболеваний. Устойчивость растений к болезням может обеспечиваться соответствующими генами, которые сформировались в геноме в процессе эволюции. Идентификация таких генов и введение их в культивируемые сорта составляет основу технологии создания устойчивых к заболеванию культур. В настоящее время появились методы, которые позволяют идентифицировать отдельные из этих генов на молекулярном уровне. В представленном исследовании такие методы были применены для выявления генов устойчивости к бурой ржавчине (Lr генов) в геноме одного из важнейших сельскохозяйственных видов – мягкой пшеницы.

Материалы и методы. Объектом исследования служили сорта мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) различной селекции, в том числе и районированные в Беларуси. Сорта белорусской селекции любезно предоставлены Коптиком И.К. (Институт земледелия и селекции НАН РБ). Сорта селекции других стран любезно предоставлены Леоновым О.Ю. (Институт растениеводства им. В.А. Юрьева, Харьков, Украина). В общей сложности было тестировано 68 сортов. В их геноме с помощью молекулярных маркеров на основе ПЦР определяли присутствие следующих генов устойчивости к бурой ржавчине – Lr9, Lr10, Lr19, Lr20, Lr21, Lr24, Lr26.

ДНК выделяли из индивидуальных проростков, с двумя независимыми повторностями для каждого сорта по методу [1]. Идентификацию Lr генов осуществляли с помощью ПЦР с праймерами, маркирующими отдельные гены. Праймеры были выбраны на основании литературных данных (табл. 1). Реакцию вели в условиях, рекомендуемых авторами, с незначительными модификациями. В качестве контроля использовали изогенные линии *T. aestivum*, содержащие соответствующие Lr-гены. Изогенные линии были любезно предоставлены Волуевич Е.А. (ИГиЦ НАН Беларуси).

Таблица 1.

№	Маркер к гену	Хромосома	Источник гена	Литература
1	Lr9	6BL	<i>Aegilops umbellulata</i>	Schachermayr et al., 1994 [2]
2	Lr10	1AS	<i>Triticum aestivum</i>	Schachermayr et al., 1997 [3]
3	Lr19	7DL	<i>Thinopyrum</i> sp.	Prins et al., 2001 [4]
4	Lr20,Pm1	7AL	<i>Triticum aestivum</i>	Neu et al., 2002 [5]
5	Lr21	5DS	<i>Aegilops tauschii</i>	Huang, Gill, 2001 [6]
6	Lr24	3D	<i>Agropyron elongatum</i>	Schachermayr et al., 1995[7]
7	Lr26,Sr31,Yr9, Pm8	1BS	<i>Secale cereale</i>	Nago et al., 2002 [8]

Для проведения ПЦР использовали амплификатор Perkin-Elmer. Продукты амплификации разделяли в 1% агарозном геле в трис-ацетатном буфере. Гели

документировал с помощью фотографирования после окрашивания бромидом этидия и визуализации в УФ-лучах. В качестве маркера молекулярного веса использовали GeneRulertm 100bp DNA Ladder Plus (Fermentas).

Результаты и обсуждение. Для тестирования сортов пшеницы были использованы молекулярные маркеры, сцепленные с соответствующими генами устойчивости к бурой ржавчине. Среди них маркеры к генам Lr9, Lr19, Lr24, эффективным на территории республики Беларусь. С помощью указанных маркеров ген Lr9 был выявлен в трех сортах американской селекции – ABE, Arthur 71, Oasis, имеющих общее происхождение. Ген Lr19 представлен в сортах Sunnap и J503 селекции Швеции и России соответственно. Ген Lr24, также как и ген Lr21, не обнаружен в исследуемых сортах. Все указанные гены являются чужеродными для *T. aestivum* и внесены в геном культурной пшеницы из диких видов.

Маркер к гену Lr10 был обнаружен у 16 сортов канадской, американской, российской и украинской селекции. Маркер к гену Lr20 выявлен в четырех сортах Ismena, Omega селекции Польши, сорте Planet селекции Германии и сорте Заря российской селекции. Ген Lr20 входит в состав кластера, в котором находятся также гены Pm1 и Sr15. Соответственно в сортах, в которых представлен Lr20, могут быть представлены и эти гены.

Ген Lr-26, введенный в геном пшеницы в составе фрагмента 1RS хромосомы ржи *S. cereale*, представлен в 11 сортах немецкой, английской, российской и украинской селекции, в том числе в 4 белорусских сортах - Мелодия, Злата, Поэзия, Фантазия. Белорусские сорта имеют общее происхождение. Они произошли от скрещивания сортов Kronjuwel и Днепровская 39. Сорт Kronjuwel несет в составе генома ген Lr26. Из этого сорта ген был внесен в сорта белорусской селекции. Вместе с геном Lr26, короткое плечо хромосомы 1 ржи (1RS) несет в своем составе еще несколько генов устойчивости к патогенам, а именно Sr31, Yr9, Pm8. Следовательно сорта, содержащие ген Lr26, содержат также гены Sr31, Yr9, Pm8.

Таким образом, с помощью молекулярных маркеров отдельные гены устойчивости к грибным заболеваниям были идентифицированы в геноме сортов пшеницы. Использование молекулярных маркеров оказывается быстрым и надежным методом по сравнению с традиционными генетическими методами. Результаты о содержании отдельных генов, представленные в исследовании, можно применять для характеристики и паспортизации сортов, а также для прогнозирования уровня устойчивости сортов пшеницы при возделывании.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Plaschke J., M.W. Ganal, M.S. Roder M.S. 1995. TAG. V. 91. P. 1001-1007.
2. Schachermayr G., Siedler H., Gale M.D., Winzeler H., Winzeler M., Keller B. TAG. 1994. V. 88. P. 110-115.
3. Schachermayr G., Feuillet C., Keller B. 1997. Mol. Breeding. V. 3. P. 65-74.
4. Prins R., Groenewald J.Z., Marais G.F., Snape J.W., Koeber R.M.D. 2001. TAG.V. 103. P. 618-624.
5. Neu C., Stein N., Keller B. Genome. 2002. V. 45. P. 737-744.
6. Huang L., Gill B.S. 2001. TAG.V. 103. P.1007-1013. Schachermayr G., Messmer M.M., Feuillet C., Winzeler H., Winzeler M., Keller B. Theor. Appl. Genet. 1995. TAG.V. 90. P. 982-990.
7. Schachermayr G., Messmer M.M., Feuillet C., Winzeler H., Winzeler M., Keller B. 1995. TAG. V. 90. P. 982-990.
8. Mago R., Spielmeier W., Lawrence G.J., Lagudah E.S., Ellis J.G., Pryor A. 2002. TAG V. 104. P. 1317-1324.