

поприятными для развития болезни погодными условиями потери урожая могут достигать 50%. Особенностью проявления септориоза является длительный период без видимых симптомов, сменяющийся быстрой некротизацией клеток и отмиранием листьев пшеницы. Для уменьшения потерь урожая целесообразно подбирать сорта, устойчивые к данному заболеванию, при этом отбор следует проводить на основе генетических маркеров.

**Цель.** Выявить гены устойчивости к септориозу в коллекции коммерческих сортов мягкой пшеницы с использованием микросателлитных маркеров *Xfcp1*, *Xfcp2*, *Xfcp393* и *Xfcp394*.

**Материалы и методы.** В качестве объекта исследования были выбраны 80 коммерческих сортов мягкой пшеницы, обладающих разной степенью устойчивости к грибным заболеваниям. Идентификацию устойчивости к септориозу проводили методом полимеразной цепной реакции с использованием SSR-маркеров, ассоциированных с геном *Tsn1*, определяющим синтез белка-инактиватора некротического токсина грибов *Septoria*. Для исследования были выбраны четыре локуса, полиморфные варианты которых ассоциированы с данным геном – *Xfcp1*, *Xfcp2*, *Xfcp393* и *Xfcp394*.

Основные результаты. На основе проведенного анализа было показано наличие нескольких аллельных вариантов. Для локуса *Xfcp1* было показано наличие трех аллелей: I – аллель 374 п.н.; S – аллель 402 п.н. и N – нулевой аллель.

Статистический анализ выявил наличие I аллеля у 45% проанализированных сортов. Аллель I, ассоциированный с высокой степенью устойчивости растения к токсину SnTox1, связан с рецессивным аллелем *tsn1* – аллелем устойчивости к заболеванию. В остальных сортах был выявлен нулевой аллель N и аллель S, 16% и 39% соответственно. Для локусов *Xfcp393* и *Xfcp394* в исследуемых сортах было выявлено по два аллеля. Для *Xfcp393* I – аллель 333 п.н.; S – аллель 374 п.н. для локуса *Xfcp394* обнаружен I – аллель 383 п.н.; S – аллель 328 п.н. Анализ показал, что в случае локуса *Xfcp393* аллели I присутствуют у 27%, а S аллель у 73% сортов. В случае локуса *Xfcp394* распределение частот аллелей составило 61% для S и 39% для I. В случае локуса *Xfcp2* проводили анализ на наличие аллеля 498 (498 п.н.), ассоциированного с рецессивным аллелем *tsn1*. Искомый аллель был выявлен в 24 сортах, т.е. в 30% от всех изученных.

**Выводы.** Корреляция между наличием любого из аллельных вариантов локусов *Xfcp393* и *Xfcp2* с устойчивостью к заболеванию не была выявлена. Возможно, это связано со специфической устойчивостью, проявляемой только к *Septoria tritici* и восприимчивостью к *Septoria nodorum*. Наиболее перспективными донорами маркеров ассоциативной селекции *tsn1*, связанной с устойчивостью к токсину SnTox1, можно назвать сорта, имеющие генотип I/(S-I)/I локусов *Xfcp1/Xfcp393/Xfcp394*, соответственно.

## ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ИСХОДНОГО СЕЛЕКЦИОННОГО МАТЕРИАЛА РИСА С РАЗЛИЧНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ПИРИКУЛЯРИОЗУ (MAGNAPORTHE GRISEA, HERBERT BARR)

Токаренко М.Р., Костылев П.И., Усатова О.А., Усатов Н.А.

Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, РФ

Всероссийский научно-исследовательский институт зерновых культур имени И.Г. Калиненко, Зерноград, Ростовская область, РФ

В настоящее время рост населения земного шара значительно опережает производство зерна, и по прогнозам FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) к 2050 г. производство сельскохозяйственной продукции в мировом масштабе должно быть увеличено не менее чем на 70 % (www.fao.org). Зерновые, в число которых входят пшеница, ячмень, кукуруза, рис, по продуктивности и кормовым качествам являются наиболее ценными сельскохозяйственными культурами и основными продуктами питания. Так, например, рис употребляют в виде основного пищевого продукта более половины населения планеты.

Актуальной проблемой для производителей являются болезни риса, драматично снижающие урожай зерна. К наиболее опасным заболеваниям относится пирикулярриоз, вызываемый грибом *Magnaporthe grisea* (Herbert) Barr. Растения поражаются в разные фазы развития, но более восприимчивы молодые растения. При этом развивается листовая форма пирикулярриоза. На более поздних стадиях – поражаются все части растения, в том числе метелки и колосовые чешуи. В этой связи, создание сортов, устойчивых к пирикулярриозу – наиболее эффективный путь получения высоких урожаев риса без фунгицидов. Сегодня в работе селекционеров в помощь традиционным методам стали внедряться технологии маркерной селекции.

Целью работы является идентификация с помощью

ДНК-маркеров гомозиготных линий риса с доминантными аллелями 5-ти генов устойчивости к пирикулярриозу *Pi 1*, *Pi 2*, *Pi 33*, *Pi ta*, *Pi b*, так как «пирамидированные» линии с 5 генами устойчивости к пирикулярриозу, демонстрируют большую степень устойчивости, по сравнению с линиями, с единичными генами.

На базе ВНИИЗК им. И.Г. Калиненко (ОПХ «Пролетарское») в анализ были взяты гибриды F<sub>2</sub>, полученные в результате гибридизации гомозиготных форм, с доминантными аллелями 3-х генов: *Pi 1*, *Pi 2*, *Pi 33* и растений с доминантными аллелями 2-х генов: *Pi ta* и *Pi b*. В качестве контрольного, чувствительного образца к пирикулярриозу (гомозиготный по рецессивным аллелям 5-ти исследуемых генов), использовали сорт «Боярин». В работе исследовали ДНК-маркеры, ассоциированные с 5 генами устойчивости риса к пирикулярриозу – фланкирующие микросателлитные – *Rm 224*, *Rm 527*, *Rm 72* и внутригенные – *Pi-b*, *Pi-ta* (Супрун, 2004; Мухина, 2012).

Геномную ДНК выделяли из листовой ткани проростков согласно методике (Маркин, 2006). Концентрацию ДНК определяли на флуориметре QuantiFluor (Promega, США). Полимеразную цепную реакцию проводили в 25 мкл реакционной смеси следующего состава: 67 мМтрис – HCl, pH8.8; 16мМ (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 2.5мМ MgSO<sub>4</sub>, 0.1мМ меркаптоэтанол, 0.25мМ каждого ДНТФ (ДАТФ, ДЦТФ, ДТТФ, ДГТФ), по 20 пМ

праймеров; 2,5 ед. Taq-полимеразы, 15 нг выделенной ДНК. Амплификацию проводили в термоциклере PalmCycler (Corbett Research, Австралия). Температурный режим реакций подбирали для каждой пары праймеров с учетом их нуклеотидного состава. Продукты амплификации разделяли в 1,7 % агарозном геле. Гели фотодокументировали с помощью системы GelDoc 2000 (BioRad, США). В качестве маркера массы, использовали 100 bp Ladder DNA marker (Axugen biosciences, США).

По результатам амплификации между исследуемыми образцами выявлены аллельные различия. Размеры амплифицированных фрагментов различались по всем изученным праймерам.

В таблице 1 представлены количественные показатели

40 генотипов гибридов F2. Видно, что полученные результаты по каждому из 5 генов значительно отличаются от теоретически ожидаемых (1:2:1). Такое отклонение вероятно связано с влиянием отбора, так как в анализ отбирали по фенотипу лучшие в селекционном отношении растения, а гены Pi сцеплены с многими нежелательными признаками, такими как осыпаемость колосков, позднеспелость, гибридная стерильность, остистость, высокорослость. Более того мы отбирали в анализ фертильные формы, которые являются гомозиготами, в то время как гетерозиготы имеют повышенную стерильность.

Таблица 1

Количество генотипов в F2

Генотипы	Гены устойчивости к пирикулярриозу				
	Pi 1	Pi 2	Pi 33	Pi b	Pi ta
Доминантные гомозиготы Pi Pi	24	19	14	30	31
Гетерозиготы Pi pi	3	9	0	4	0
Рецессивные гомозиготы pi pi	13	12	26	6	9

Таким образом, в результате ПЦР-анализа образцов с пирамидированными генами устойчивости удалось выделить один образец риса, гомозиготный по всем 5 доминантным аллелям. Этот генотип представляет особый интерес для дальнейшей селекции. Так же показано, что с помощью изученных ДНК-маркеров, можно эффективно отбирать образцы с различной степенью пирамидирования генов для их дальнейшей селекции.

#### Список литературы:

1. <http://www.fao.org>
2. Маркин Н.В., Усатов А.В., Федоренко М.А. RAPD-анализ генотипов солеустойчивых форм горчицы (*Brassica*

*juncea* L.) // Экологический вестник научных центров Черноморского экономического сотрудничества. – 2006. – № 2. – С. 78-81.

3. Мухина Ж.М. Эффективность методов молекулярного маркирования в селекции, семеноводстве сельскохозяйственных культур и для изучения биоразнообразия растительных ресурсов // Автореферат дисс... докт. биол. наук, Краснодар, 2012. – 47 с.

4. Супрун И.И. Использование ДНК-маркеров в селекционно-генетических исследованиях риса // Автореферат дисс... канд. биол. наук, Краснодар, 2004. – 24 с.

## ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ИСХОДНОГО СЕЛЕКЦИОННОГО МАТЕРИАЛА ПОДСОЛНЕЧНИКА С РАЗЛИЧНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ЗАРАЗИХЕ (*OROBANCHE CUMANA WALLR*)

Токаренко М.Р., Тихобаева В.Е., Горбаченко О.Ф., Усатова О.А., Азарин К.В.

Южный федеральный университет Ростов-на-Дону, РФ

Донская опытная станция им. Л.А. Жданова, Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур имени В.С. Пустовойта, п. Опорный, Ростовская область, РФ

Заразиха подсолнечная (*Orobanche cumana Wallr*) – узкоспециализированный паразит, представленный многочисленными расами, постоянно возникающими в результате сопряженной эволюции паразита и хозяина, которые способны преодолевать иммунитет устойчивых сортов и гибридов подсолнечника. Сегодня у подсолнечника дифференцировано 8 рас *O. cumana*: A, B, C, D, E, F, G, H (Дьяков, 2008, Антонова, 2011). Угроза снижения урожаев подсолнечника из-за поражения различными расами заразихи обусловила необходимость создания устойчивых и выносливых генотипов к этому растению паразиту.

Внедрение молекулярных маркеров в практику биологических исследований расширили возможности маркирования селекционных признаков, в том числе устойчивость к патогенам. ДНК-маркеры особенно эффективны для бы-

строй идентификации в больших выборках потенциально устойчивых генотипов к патогену. Так как устойчивость к заразихе у подсолнечника контролируется семейством доминантных генов *Or*, нами были выбраны SCAR-маркеры локуса *Or5*, ассоциированные с устойчивостью подсолнечника к заразихе (Lu Y.H. et al., 2000).

На базе Донской опытной станции им. Л.А. Жданова ВНИИМК создан инфекционный участок, на котором ежегодно в полевых условиях оценивают сотни линий и сортов подсолнечника на устойчивость к заразихе (Горбаченко, 2010). По результатам полевых и лабораторных исследований были отобраны 5 селекционных образцов полностью устойчивых и 5 образцов наиболее чувствительных к этому паразиту.

Геномную ДНК выделяли из листовой ткани пророст-