3. Полюдина Р.И. Экологическая селекция клевера лугового для создания сортов с повышенной адаптивностью к отрицательному воздействию температурных факторов среды в условиях Западно-Сибирского региона / Экологическая селекция и семеноводство клевера лугового. – М., 2012. – С. 77–103.
4. Новоселов М.Ю. Селекция клевера лугового. – М., 1999. – С. 183.
5. Полюдина Р.И. Селекционный потенциал клевера лугового в Сибири // Сиб. вестн. с.-х. науки. – 2016, №5. – С. 106–112.
6. Полюдина Р.И. Клевер в Сибири / СФНЦА РАН. – Новосибирск, 2017. – 348 с.
7. Рожанская О.А., Полюдина Р.И. Особенности селекции сои с использованием методов соматической изменчивости и мутагенеза в условиях Западной Сибири // Сиб. вестн. с.-х. науки, 2012. – №4. – С. 69–76.
8. Кашеваров Н.И., Полюдина Р.И., Данилов В.П., Потапов Д.А. Сорта кормовых культур в Сибири для импортозамещения АПК РФ // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – №3 (59), 2016. – С. 167–176.
9. Кашеваров Н.И., Полюдина Р.И., Полищук А.А., Петров А.Ф., Кашеварова Н.Н. Кормовые бобы Сибирские // Кормопроизводство. – 2008. – №4. – С. 20–21.
10. Кашеваров Н.И., Полюдина Р.И., Балыкина Н.В., Штаус А.П. Суданка в кормопроизводстве Сибири / Под ред. Н.И. Кашеварова. – Новосибирск, 2004. – 224 с.
11. Полюдина Р.И., Потапов Д.А., Харчбеников В.В. Новый сорт редьки масличной Сибирячка // Сиб. вестн. с.-х. науки, 2018. – Т. 48 (4). – С. 50–54.

DOI 10.18699/GPB2020-33

Использование расширенной панели молекулярных маркеров на гены устойчивости (*Sr21*, *Sr23*, *Sr35*, *Sr36*, *Sr38*) к стеблевой ржавчине на сортах мягкой и твердой пшеницы

*Кельбин В.Н. *, м.н.с.; Сколотнева Е.С., к.б.н., с.н.с.; Морозова Е.В., м.н.с.; Салина Е.А., д.б.н., г.н.с.*

ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия.

**e-mail: kelbin@bionet.nsc.ru*

*Стеблевая ржавчина пшеницы – губительное заболевание, которое представляет реальную угрозу для производства пшеницы во всем мире. С каждым годом возрастает вероятность появления и распространения новых вирулентных рас гриба. В этом исследовании мы провели оценку новой расширенной панели молекулярных маркеров (5 доминантных и кодоминантных маркера) на гены устойчивости к стеблевой ржавчине на 11 сортах мягкой и твердой пшеницы в комплексе с фитопатологической оценкой к агрессивной западно-сибирской расе *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*.*

Ключевые слова: молекулярные маркеры, гены устойчивости, анализ вирулентности, стеблевая ржавчина пшеницы.

The use of an expanded panel of molecular markers for stem rust resistance genes (*Sr21*, *Sr23*, *Sr35*, *Sr36*, *Sr38*) on soft and durum wheat varieties

Kelbin Vasily Nikolaevich

Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia.

*Wheat stem rust is a fatal disease that poses a real threat to wheat production worldwide. The likelihood of the emergence and spread of new virulent mushroom races increases every year. In this study, we evaluated a new expanded panel of molecular markers (5 dominant and codominant markers) for stem rust resistance genes in 11 varieties of soft and durum wheat in combination with a phytopathological assessment of the aggressive West Siberian race *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*.*

Key words: molecular markers, resistance genes, virulence analysis, wheat stem rust.

Стеблевая ржавчина пшеницы, вызываемая грибом *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* (Pgt) – является серьезным инфекционным заболеванием, которое угрожает посевам пшеницы по всему миру на протяжении веков [2]. Наиболее эффективным, экономичным и экологически чистым способом защиты пшеницы от эпифитотий стеблевой ржавчины является возделывание устойчивых сортов и линий. В этой связи возникает необходимость оценки генетического потенциала существующих коллекций мягкой и твердой яровой пшеницы и идентификацию генов устойчивости, которые будут эффективны не только против местных популяций патогена, но и против расы Ug99.

Целью работы была оценка разрешающей способности однозначных доминантных и кодоминантных молекулярных маркеров на *Sr* гены устойчивости к стеблевой ржавчине у сортов яровой мягкой и твердой пшеницы Оренбургской селекции, с последующим фитопатологическим тестированием сортов на устойчивость к агрессивному монопустульному изоляту стеблевой ржавчины, доминирующему в западно-сибирской популяции Pgt.

Материал и методы. В работе был анализирован селекционный материал, состоящий из (1) 6 сортов яровой мягкой пшеницы: Варяг, Оренбургская 13, Оренбургская 22, Оренбургская 23, Оренбургская юбилейная, Учитель; и (2) 5 сортов яровой твердой пшеницы: Оренбургская 10, Оренбургская 21, Меляна, Оренбургская целинная, Целинница.

Для идентификации генов устойчивости (*Sr36*, *Sr38*, *Sr23*, *Sr21* и *Sr35*) использовали ДНК маркеры, рекомендованные для маркер-вспомогательной селекции (MAS) (табл. 1).

Таблица 1 – Молекулярные маркеры для генов устойчивости к стеблевой ржавчине

Ген	Праймеры	Структура	Ссылка
Sr21	Sr21TRYF5R5	5'-CCTAGAGAAACGGAAGGGACCA-3' 5'-TGTGAGCTGTTTGCAGAAGTGTG-3'	[4]
Sr23	XTaLr16_RGA266585	5'-GCTGGGATGAGCAATAAC-3' 5'-GCAACCAACAACATCAGTAG-3'	[5]
Sr35	CNL9	5'-CTCATCAACTGCTTGAGCGAAC-3' 5'-GTATCTAGCGAACCTCAATCG-3'	[9]
Sr36	Xstm773-2	5'-ATGGTTTGTGTGTGTGTGTAGG-3' 5'-AAACGCCCCAACCACTCTCTC-3'	[6]
Sr38	VENTRIUP-LN2	5'-AGGGGCTACTGACCAAGGCT-3' 5'-TGCAGCTACAGCAGTATGTACACAAAA-3'	[7]

ДНК выделяли из шестидневных проростков методом Plaschke et al., 1995, с измененными параметрами механической гомогенизации: разрушение спор гриба лизирующим матриксом (керамические шарики диаметром 1 мм) при комнатной температуре в экстракционном буфере на гомогенизаторе FastPrep-24 MP «Biomedicals». Положительными контролями служили изогенные линии и сорта с известными *Sr* генами, негативным контролем – восприимчивый сорт Thatcher и Хакасская. Фитопатологическую оценку устойчивости в лаборатории проводили на стадии проростков по стандартным методикам [1].

Результаты и обсуждение. Условия для эффективной амплификации диагностических фрагментов расширенной панели молекулярных маркеров к генам устойчивости *Sr21*, *Sr23*, *Sr35*, *Sr36*, *Sr38*, отработанные нами на матрицах положительных контролей (табл. 2.).

Таблица 2 – Расширенная панель молекулярных маркеров с параметрами амплификации и размерами диагностических фрагментов

Ген	Праймеры	Условия амплификации (<i>T</i> отжига праймеров)	Длина фрагмента
Sr21	Sr21TRYF5R5	56 °C	R – 951 п.н.
Sr23	XTaLr16_RGA266585	52 °C	R – 57 п.н.
Sr35	NL9	61 °C	R – 719 п.н.
Sr36	Xstm773-2	55 °C	R – 155 п.н.; S – ~ 180 п.н.
Sr38	VENTRIUP-LN2	65 °C	R – 259 п.н.

- Идентификация *Sr21*

Ген устойчивости к стеблевой ржавчине *Sr21* обеспечивает эффективную защиту от нескольких рас Pgt, в том числе из группы Ug99. Данный ген впервые идентифицирован у диплоидной пшеницы *Triticum monosocum*

[11], а затем перенесен на гексаплоидную пшеницу, где он был картирован на плече хромосомы 2AL. Для гена устойчивости *Sr21* известен PCR-CAP маркер Sr21TRYF5R5. Обработка ферментом эндонуклеазой рестрикции Nsi I выдает два фрагмента длиной 836 п.н. и 115 п.н. для образцов *T. monosocum*, которые несут восприимчивый гаплотип к *Sr21*, и одну полосу 951 п.н. для образцов, которые несут устойчивый гаплотип. Продемонстрировано отсутствие маркера на транслокацию у исследуемых сортов, что согласуется с их родословной.

- Идентификация *Sr23*

Ген устойчивости к стеблевой ржавчине *Sr23* расположен на малом плече хромосомы 2B. Для гена устойчивости *Sr23* известен RGA маркер XTaLr16_RGA266585, который картирован проксимально на 1,2 и 23,8 сМ от *Lr16* [5].

- Идентификация *Sr35*

Ген устойчивости к стеблевой ржавчине *Sr35* первоначально был перенесен из *T. monosocum* в гексаплоидную пшеницу [8]. Известно, что фрагмент *T. monosocum*, содержащий *Sr35*, расположен на плече 3AL хромосомы в *T. aestivum* [12]. Для гена устойчивости *Sr35* известен доминантный маркер CNL9, который охватывает локус *Sr35*.

- Идентификация *Sr36*

Ген устойчивости к стеблевой ржавчине *Sr36*, получен из *T. timopheevi*, придает устойчивость к расе Ug99. Данный ген картирован на плече хромосомы 2BS мягкой пшеницы. Для гена устойчивости *Sr36* известен кодоминантный SSR маркер Xstm773.

- Идентификация *Sr38*

Ген устойчивости к стеблевой ржавчине *Sr38* расположен на длинном хромосомном фрагменте (25–38 сМ), который содержит три гена устойчивости к ржавчине (*Lr37*, *Yr17* и *Sr38*), он был перемещен на короткое плечо *T. ventricosum* 2NS и хромосомой 2AS мягкой пшеницы [3]. Для верификации гена устойчивости *Sr38* разработана пара праймеров VENTRIUP–LN2, которые амплифицируют фрагмент в 259 п.н. несущие транслокацию 2NS. Маркер успешно применяется в качестве диагностического [10].

Таким образом, применение расширенной панели маркеров позволило констатировать отсутствие в тестируемом генетическом материале генов устойчивости *Sr21*, *Sr23*, *Sr35*, *Sr36*, *Sr38*. Фитопатологическое тестирование материала обнаружило высокую восприимчивость сортов к образцам западно-сибирской популяции стеблевой ржавчины: «3» и «4» балла по шкале инфекционных типов.

Благодарности: Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-316-90051 и бюджетным проектом № 0259-2019-0001-С-01.

Список литературы

1. Сколотнева Е.С. и др. Расовый состав новосибирской популяции *Puccinia graminis f. sp. tritici* // Микология и фитопатология. – 2020. – Т. 54. – №. 1. – С. 49–58.
2. Наумов Н.А., Гешель Е.Е., Шитикова-Русакова А.А. Ржавчина хлебных злаков в СССР: монографическая сводка. – Сельхозгиз, 1939.
3. Bariana H.S., McIntosh R.A. Cytogenetic studies in wheat. XV. Location of rust resistance genes in VPM1 and their genetic linkage with other disease resistance genes in chromosome 2A // Genome. – 1993. – Т. 36. – №. 3. – С. 476–482.
4. Chen S. et al. Identification and characterization of wheat stem rust resistance gene Sr21 effective against the Ug99 race group at high temperature // PLoS genetics. – 2018. – Т. 14. – №. 4.
5. Harrison N.R. et al. Using RNA sequencing and in silico subtraction to identify resistance gene analog markers for Lr16 in wheat // The Plant Genome. – 2015. – Т. 8. – №. 2.
6. Hayden M.J., Sharp P.J. Sequence-tagged microsatellite profiling (STMP): a rapid technique for developing SSR markers // Nucleic acids research. – 2001. – Т. 29. – №. 8. – С. e43–e43.
7. Helguera M. et al. PCR assays for the Lr37-Yr17-Sr38 cluster of rust resistance genes and their use to develop isogenic hard red spring wheat lines // Crop Science. – 2003. – Т. 43. – №. 5. – С. 1839–1847.
8. McIntosh R.A. et al. Cytogenetical studies in wheat. XIII: Sr 35—a third gene from Triticum monococcum for resistance to Puccinia graminis tritici // Zeitschrift für Pflanzenzüchtung. – 1984. – Т. 92. – №. 1. – С. 1–14.
9. Saintenac C. et al. Identification of wheat gene Sr35 that confers resistance to Ug99 stem rust race group // Science. – 2013. – Т. 341. – №. 6147. – С. 783–786.
10. Shamanin V. et al. Genetic diversity of spring wheat from Kazakhstan and Russia for resistance to stem rust Ug99 // Euphytica. – 2016. – Т. 212. – №. 2. – С. 287–296.
11. The T.T. Chromosome location of genes conditioning stem rust resistance transferred from diploid to hexaploid wheat // Nature New Biology. – 1973. – Т. 241. – №. 112. – С. 256–256.
12. Zhang W. et al. Genetic maps of stem rust resistance gene Sr35 in diploid and hexaploid wheat // Crop science. – 2010. – Т. 50. – №. 6. – С. 2464–2474.

DOI 10.18699/GPB2020-34

Новые гены-кандидаты, определяющие текстуру зерна у российских сортов мягкой пшеницы

Киселева А.А.^{1*}, к.б.н., н.с., Леонова И.Н.¹, Пшеничникова Т.А.¹, Салина Е.А.¹

¹ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН), г. Новосибирск, Россия.

*e-mail: antkiseleva@bionet.nsc.ru

В ходе данного исследования на материале коллекции яровых сортов мягкой пшеницы отечественной селекции подтверждена ключевая роль пу-роиндолинов в формировании текстуры зерна, а также с использованием