

## СЕКЦІЯ 2. ГЕНЕТИКА І ФІЗІОЛОГІЯ

УДК 575.22:631.523.11:633.111.1

### ИДЕНТИФИКАЦИЯ СОРТОВ МЯКОЙ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM AESTIVUM* L.) СЕВЕРА УКРАИНЫ ПО АЛЛЕЛЯМ ГЕНОВ ГИБРИДНОГО НЕКРОЗА *Ne1* И *Ne2*

А.В. Галаев, М.В. Галаева

Селекционно-генетический институт – Национальный центр семеноведения  
и сортоизучения НААН, Украина  
e-mail: galaev7@ukr.net

Гибридный некроз - преждевременная постепенная гибель листьев или растений F<sub>1-2</sub> пшеницы в определенных комбинациях скрещивания, что обусловлено взаимодействием двух доминантных комплементарных генов *Ne1* и *Ne2*, локализованных соответственно в хромосомах 5BL и 2BS (Tsunewaki, 1992).

Гибридный некроз является довольно серьезным препятствием для объединения желаемых признаков в одном генотипе и интрогрессии генов от диких видов коммерческим сортам. Также гибридный некроз может способствовать искажению результатов генетического анализа определенных признаков из-за элиминации некоторых генотипов в расщепляющихся популяциях. Поэтому при подборе родительских пар для скрещиваний селекционеры и генетики должны избегать объединения сильных аллелей генов гибридного некроза в одном генотипе. Сведения о сортах-носителях летальных генов *Ne* можно найти в публикациях (Nishikawa et al., 1974; Gupta S., Gupta A.K., 1993; Пухальский В.А. и др., 1998, 2002, 2008). Однако большинство сортов украинской селекции не идентифицированы по аллелям генов гибридного некроза. Наличие доминантных генов *Ne1* и *Ne2* у сортов выявляют с помощью классического генетического анализа при скрещивании с сортами-тестерами, которые имеют генотипы *ne1ne1Ne2<sup>s</sup>Ne2<sup>s</sup>* и *Ne1<sup>s</sup>Ne1<sup>s</sup>ne2ne2*. Данный подход требует больших затрат времени и труда, к тому же на фенотипическое проявление гибридного некроза влияют факторы окружающей среды (Hermsen, 1963; Zeven, 1972). Использование молекулярных маркеров, тесно сцепленных с генами гибридного некроза, значительно ускорит идентификацию генотипов-носителей генов *Ne1* и *Ne2*. С помощью MAS-подхода можно будет проводить негативный отбор генотипов-носителей сильных аллелей генов гибридного некроза из ценного селекционного материала либо, напротив, создавать коммерческие сорта с определенными комбинациями аллелей указанных генов. Chu et al. (2006) провели молекулярное картирование генов гибридного некроза *Ne1* и *Ne2* с использованием микросателлитных маркеров и показали, что маркер *Xbarc74-5B* сцеплен с геном *Ne1* на генетическом расстоянии 2,0 сМ, а маркер *Xbarc55-2B* – с *Ne2* на расстоянии 3,2 сМ.

Степень проявления гибридного некроза зависит от силы взаимодействующих доминантных аллелей: трех аллелей *Ne1* (*Ne1<sup>w</sup>* - слабый, *Ne1<sup>m</sup>* - средней силы, и *Ne1<sup>s</sup>* - сильный) и пяти аллелей *Ne2* (*Ne2<sup>w</sup>* - слабый, *Ne2<sup>mw</sup>* - ниже средней силы, *Ne2<sup>m</sup>* - средней силы, *Ne2<sup>ms</sup>* - выше средней силы, и *Ne2<sup>s</sup>* - сильный), которые были дифференцированы Hermsen (1963) и Zeven (1972). В литературных источниках нет информации, как согласуются аллели (продукты амплификации) локусов *Xbarc74-5B* и *Xbarc55-2B* с аллелями генов *Ne1* и *Ne2*, имеющими разную силу. Поэтому цель нашего исследования – идентификация аллелей локусов *Xbarc74-5B* и *Xbarc55-2B* у сортов пшеницы мягкой озимой Севера Украины и выявление соответствия между определенными аллелями указанных локусов и различными по силе аллелями генов *Ne1* и *Ne2*.

Материалом для исследований служили 38 сортов мягкой пшеницы различных

селекционных центров Севера Украины (Артемовка, Белоцерковская 198, Веселоподолянская 499, Веснянка, Волынская полуинтенсивная, Волошкова, Добирна, Зенитка, Золотоколосая, Ильичевка, Калинова, Колос Миронивщины, Колумбия, Легенда Мироновская, Лира, Лесостепка 75, Лютесценс 17, Мироновская 808, Мирлена, Мирлебен, Мироновская 65, Мирхад, Монолог, Монотип, Подолянка, Полукарлик 1, Роставица, Смила, Смуглянка, Снижана, Спасивка, Украинка, Украинка 0246, Уникум, Экономка, Экспромт, Эритроспермум 15, Ясногирка) из рабочих коллекций отдела общей и молекулярной генетики и отдела селекции и семеноводства пшеницы Селекционно-генетического института-НЦНС. Сорты-носители известных аллелей генов *Ne1* и *Ne2* – Chinese Spring (*ne1 ne2*), Red Egyptian (*ne1*), Mentana (*Ne1<sup>w</sup>*), Kenya Farmer (*Ne1<sup>w</sup>*), Koga (*Ne1<sup>m</sup>*), Big Club (*Ne1<sup>s</sup>*), Marquillo (*Ne1<sup>s</sup>*), Qanahan (*Ne1<sup>s</sup>*), Vakka (*Ne2<sup>w</sup>*), Sonalika (*Ne2<sup>m</sup>*), Dawson (*Ne2<sup>ms</sup>*) и Blackhull (*Ne2<sup>s</sup>*) – предоставлены USDA, Germplasm Resources Information Network (<http://www.ars-grin.gov>).

ДНК выделяли из 5-дневных проростков с помощью СТАВ-буфера. Исследовали ДНК пяти индивидуальных растений каждого сорта. ПЦР с направленными праймерами к микросателлитным локусам *Xbarc74-5B* и *Xbarc55-2B* проводили на термоциклере PeqStar 96x Universal Gradient («PEQLab», Великобритания). Продукты амплификации фракционировали в 10% неденатурирующем полиакриламидном геле в 1xTBE. Электрофорез в полиакриламидном геле проводили при постоянном напряжении 500 V в аппарате для вертикального гель-электрофореза VE-3 «Helicon» (РФ). Визуализацию продуктов электрофоретического распределения проводили импрегнированием гелей нитратом серебра согласно Budowle (1991). Калибровку молекулярной массы полученных ампликонов осуществляли с использованием стандарта 10 bp DNA Ladder.

Статистическую обработку полученных результатов выполняли по общепринятым методикам (Рокицкий, 1973).

Для определения соответствия аллелей микросателлитных локусов *Xbarc74-5B* и *Xbarc55-2B* различным по силе аллелям генов *Ne1* и *Ne2* с использованием направленных праймеров к указанным локусам провели амплификацию ДНК известных сортов-носителей разных аллелей генов *Ne1* и *Ne2*: Chinese Spring (*ne1ne2*), Red Egyptian (*ne1*), Mentana (*Ne1<sup>w</sup>*), Kenya Farmer (*Ne1<sup>w</sup>*), Koga (*Ne1<sup>m</sup>*), Big Club (*Ne1<sup>s</sup>*), Marquillo (*Ne1<sup>s</sup>*), Qanahan (*Ne1<sup>s</sup>*), Vakka (*Ne2<sup>w</sup>*), Sonalika (*Ne2<sup>m</sup>*), Dawson (*Ne2<sup>ms</sup>*) и Blackhull (*Ne2<sup>s</sup>*). Показано, что рецессивному аллелю гена *ne1* соответствуют аллели локуса *Xbarc74-5B* размером 156 п.н. и 154 п.н., доминантному аллелю гена *Ne1<sup>w</sup>* – аллели 174 п.н. и 164 п.н., аллелю гена *Ne1<sup>m</sup>* – 160 п.н., аллелю гена *Ne1<sup>s</sup>* – аллели 166 п.н. и 158 п.н.; рецессивному аллелю гена *ne2* соответствуют аллели локуса *Xbarc55-2B* размером 142 п.н., доминантным аллелям гена *Ne2<sup>w</sup>* и *Ne2<sup>m</sup>* соответствует аллель 136 п.н., аллелю гена *Ne2<sup>ms</sup>* – 132 п.н., аллелю гена *Ne2<sup>s</sup>* – аллель 126 п.н. Пара праймеров к локусу *Xbarc55-2B* не позволила дифференцировать сорта-носители аллелей *Ne2<sup>w</sup>* и *Ne2<sup>m</sup>* между собой. Аллель 136 п.н. локуса *Xbarc55-2B* обозначим как *Ne2<sup>w/m</sup>*.

При исследовании 38 сортов пшеницы мягкой идентифицировано пять аллелей локуса *Xbarc74-5B* размером 174 п.н., 164 п.н., 162 п.н., 160 п.н., 156 п.н. и четыре аллеля локуса *Xbarc55-2B* размером 142 п.н., 136 п.н., 132 п.н., 126 п.н. Выявленные аллели локусов *Xbarc74-5B* и *Xbarc55-2B* в сортах Севера Украины отнесли к соответствующим по силе аллелям гена *Ne1* и *Ne2* согласно с данными ПЛР анализа известных сортов-носителей. Аллель локуса *Xbarc74-5B* размером 162 п.н., выявляемый среди сортов украинской селекции, не обнаружен в изученной выборке известных сортов-носителей аллелей гена *Ne1*. Можно предположить, что аллель 162 п.н. соответствует рецессивному аллелю *ne1* либо доминантному аллелю слабой силы *Ne1<sup>w</sup>*, т.к. большинство сортов, имеющих данный аллель, содержат в своем геноме аллель вышесредней силы *Ne2<sup>ms</sup>* (Галаев и др., 2013). В случае комбинации в одном генотипе генов *Ne1<sup>m</sup>Ne1<sup>m</sup>Ne2<sup>ms</sup>Ne2<sup>ms</sup>* проявлялся бы некроз в виде уменьшения размера и количества колосьев, в случае *Ne1<sup>s</sup>Ne1<sup>s</sup>Ne2<sup>ms</sup>Ne2<sup>ms</sup>* – отсутствие колосьев (Hermsen, 1963). У сорта Мироновская 808, который также характеризовался аллелем 162 п.н. локуса *Xbarc74-5B*, не наблюдалось вышеуказанных внешних проявлений

взаимодействия генов гибридного некроза, и данный сорт является носителем рецессивных аллелей гена *Ne1* (*ne1ne1*) согласно с исследованиями В.А. Пухальского (1998, 2002, 2008). В связи с этим можно утверждать, что аллель 162 п.н. соответствует рецессивному аллелю гена *ne1*.

В общем наборе сортов с наибольшей частой встречались аллели локуса *Xbarc74-5B* размером 162 п.н. (44,8%) и 160 п.н. (26,3%), что соответствует рецессивному аллелю *ne1* и аллелю средней силы *Ne1<sup>m</sup>*. Также с суммарной частотой 26,3% встречался аллель слабой силы *Ne1<sup>w</sup>* (аллели размером 174 п.н. (9,2%) и 164 п.н. (17,1%). Среди выявленных аллелей локуса *Xbarc55-2B* у сортов чаще встречались аллели 136 п.н. (40,8%) и 132 п.н. (39,5%), что соответствует доминантному аллелю гена *Ne2<sup>w/m</sup>* и аллелю вышесредней силы *Ne2<sup>ms</sup>*. Наименее распространенными среди сортов Севера Украины были аллель 156 п.н. (2,6%) локуса *Xbarc74-5B* и аллели 142 п.н. (10,5%), 126 п.н. (9,2%) локуса *Xbarc55-2B*.

Среди исследованных 38 сортов пшеницы мягкой озимой идентифицировано 10 генотипов с различными вариантами сочетания аллелей генов *Ne1* и *Ne2* (10 некротических генотипов): *ne1ne1ne2ne2* (Мирлена, Смила), *ne1ne1Ne2<sup>w/m</sup>Ne2<sup>w/m</sup>* (Смила, Артемовка, Веселоподолянская 499, Зенитка, Снижана, Мироновская 65), *ne1ne1Ne2<sup>ms</sup>Ne2<sup>ms</sup>* (Волошкова, Калинова, Колос Миронивщины, Легенда Мироновская, Лесостепка 75, Мироновская 808, Мирхад, Роставица, Экономка, Экспромт, Ясногирка), *ne1ne1Ne2<sup>s</sup>Ne2<sup>s</sup>* (Вольнская полуинтенсивная, Легенда Мироновская, Мироновская 65, Мирхад), *Ne1<sup>w</sup>Ne1<sup>w</sup>Ne2<sup>w/m</sup>Ne2<sup>w/m</sup>* (Белоцерковская 198, Ильичевка, Лютесценс 17, Спасивка, Эритроспермум 15), *Ne1<sup>w</sup>Ne1<sup>w</sup>Ne2<sup>ms</sup>Ne2<sup>ms</sup>* (Ильичевка, Монотип, Подолянка, Украинка, Украинка 0246, Ясногирка), *Ne1<sup>w</sup>Ne1<sup>w</sup>Ne2<sup>s</sup>Ne2<sup>s</sup>* (Мирлебен), *Ne1<sup>m</sup>Ne1<sup>m</sup>ne2ne2* (Добирна, Колумбия, Монолог, Смуглянка), *Ne1<sup>m</sup>Ne1<sup>m</sup>Ne2<sup>w/m</sup>Ne2<sup>w/m</sup>* (Веснянка, Золотоколосая, Добирна, Лира, Смуглянка Полукарлик 1, Уникум), *Ne1<sup>m</sup>Ne1<sup>m</sup>Ne2<sup>ms</sup>Ne2<sup>ms</sup>* (Колумбия, Роставица). Показано, что один сорт (Мирлена) свободен от генов гибридного некроза, 21 сорт является носителями доминантных аллелей гена *Ne1* разной силы, а 36 сортов – носителями доминантных аллелей гена *Ne2*.

Селекционерам рекомендуется учитывать приведенные по некротическим генотипам данные при планировании схем скрещиваний, чтобы предотвратить объединение сильных аллелей генов гибридного некроза в одном генотипе.

УДК 577.2:58.036.5:633.11

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ И АССОЦИАЦИИ АЛЛЕЛЕЙ ЛОКУСОВ *XCFD7-5B* И *XGWM182-5D* С ХОЗЯЙСТВЕННО ЦЕННЫМИ ПРИЗНАКАМИ ПШЕНИЦЫ МЯГКОЙ ОЗИМОЙ (*TRITICUM AESTIVUM* L.)

М.В. Галаева, В.И. Файт

Селекционно-генетический институт – Национальный центр семеноведения  
и сортоизучения НААН, Украина  
e-mail: mariagal1@ukr.net

Трудно переоценить роль молекулярных маркеров (ДНК-маркеров) в современной генетике и селекции растений. Внедрение ДНК-маркеров позволяет значительно повысить эффективность селекции путем целенаправленного манипулирования конкретными генами. Один из наиболее перспективных типов ДНК-маркеров – микросателлитные маркеры. Именно микросателлитные маркеры являются наиболее подходящими для маркирования и картирования генов и локусов количественных признаков (QTL – quantitative trait loci). С помощью микросателлитных маркеров на хромосомах пятой гомеологической группы локализованы главные QTL морозостойкости *Fr-D1* и *Fr-B1* (Snape et al., 1997; Toth et al., 2003). Однако к указанным локусам микросателлитные маркеры морозостойкости не были