

Молекулярные методы идентификации генов устойчивости к возбудителю стеблевой ржавчины пшеницы (*Puccinia graminis*. f. sp. *tritici*)

Башарова К.С.¹, Пастухова Н.Д.¹, Баранова О.А.²

1 - Университет ИТМО, Санкт-Петербург

2 – Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Пушкин, Санкт-Петербург

Пшеница - одна из ведущих зерновых культур в мире. Ржавчинные грибы вызывают наиболее вредоносные заболевания пшеницы, из которых наибольший урон экономике может принести стеблевая ржавчина (возбудитель - биотрофный гриб *Puccinia graminis* f.sp.*tritici*). Его скорость распространения настолько велика, что за один полевой сезон восприимчивый сорт может полностью погибнуть. В случае возникновения эпифитотии стеблевой ржавчины, потери урожая могут достигать 80 – 100%, что может привести к продовольственному кризису. В настоящее время сохраняется угроза проникновения с Африканского континента в РФ высоковредоносной расы возбудителя стеблевой ржавчины - Ug99.

Целью нашей работы являлась оценка озимых сортов пшеницы на устойчивость к стеблевой ржавчине и идентификация эффективных генов устойчивости к этому заболеванию, в том числе и к расе Ug99 (Sr генов).

В ходе работы проанализировали российские озимые сорта мягкой пшеницы из коллекции генетических ресурсов растений ВИР (59 образцов). Оценка устойчивости в лабораторных условиях проводили по методикам, принятым в мировой практике [1]. Тип реакции определяли по шкале Стекмана [2]. Из пятидневных проростков выделяли ДНК, используя СТАВ-метод [3]. Для идентификации генов устойчивости (*Sr2*, *Sr25*, *Sr28*, *Sr31*, *Sr44*) использовали ДНК маркеры, рекомендованные для маркер - ориентированной селекции (MAS). Амплификацию проводили на амплификаторах C1000 Thermal Cycler (BioRad), разделение продуктов ПЦР в 2% агарозных гелях с добавлением бромистого этидия. Положительным контролем служили изогенные линии и сорта с генами *Sr*, негативным контролем - восприимчивый сорт Саратовская 29. В качестве маркера молекулярного веса использовали GeneRuler™ 50bp DNA Ladder («Fementas»). Визуализацию продуктов амплификации проводили с помощью гельдокументирующей системы ChemiDoc XRS+ (Bio-Rad). ПЦР ставили в 2-х повторностях.

На первом этапе работы 59 сортов на стадии проростков были оценены на устойчивость к дербентской, лысогорской (Саратовская область) и омской популяциям стеблевой ржавчины в лабораторных условиях на стадии проростков. К дербентской популяции патогена были устойчивы 56% образцов (33 сорта), 29% образцов (17 сортов) оказались устойчивы к омской популяции патогена, а 22% образцов (13 сортов) оказались устойчивы к лысогорской популяции патогена. Ко всем трем популяциям патогена были устойчивы 12% образцов (7 сортов).

Из генов, эффективных к местным популяциям стеблевой ржавчины, но не эффективным к Ug99 был идентифицирован ген *Sr31*. Для идентификации гена *Sr31* был использован маркер scm9, который выявляет ржаную транслокацию 1BL.1RS, несущую комплекс генов устойчивости к стеблевой -*Sr31*, бурой -*Lr26*, желтой -*Yr9* ржавчинам и мучнистой росе- *Pm8*. Ген *Sr31* был обнаружен у 9 образцов из 59 (15%). Сорта Васса, Богданка и Баир были гетерогенны по транслокации 1RS.1BL (*Sr31*). Из генов эффективных к Ug99 был идентифицирован ген *Sr28*. Для его идентификации использовался маркер *wPt-7004-PCR*. Ген *Sr28* был обнаружен в 3 сортах из 59 (5%): Мурат, Память и Мафэ. Ген возрастной устойчивости *Sr2* с использованием маркера *Xgwm533* был предварительно идентифицирован в сортах Дон93, Дон95, Донская Лири и Богданка (7%). Данный факт будет

проверяться в ходе дальнейшей работы с использованием других маркеров. Гены *Sr25*, *Sr57/Lr34*, *Sr44* в образцах идентифицированы не были.

Таким образом, выделены высокоустойчивые к стеблевой ржавчине сорта с идентифицированными генами устойчивости. В проанализированных образцах в основном был идентифицирован ген *Sr31*. Этот ген был обнаружен в следующих сортах: Веда, Коллега, Мафэ, Богданка, Синтетик, Березит, Баир, Васса и Вагига. Перспективное сочетание генов *Sr31+Sr28* было обнаружено в сорте Мафэ. Данный сорт был устойчив ко всем, взятым в анализ, популяциям патогена.

Список литературы

1. Jin, Y. Characterization of seedling infection types and adult plant infection responses of monogenic Sr gene lines to race TTKS of *Puccinia graminis* f. sp. *Tritici* / Jin, Y., Singh, R. P., Ward, R. W., Wanyera, R., Kinyua, M., Njau, P., Fetch, T., Pretorius, Z. A., and Yahyaoui, A. // *Plant Disease*. - 2007. - Vol. 91. – P.1096-1099.
2. Stakman E.C. The determination of biologic forms of *Puccinia graminis* on *Triticum* species / E.C. Stakman, M.N. Levine // *Minn. Arg. Res. Stn. Tech. Bull.*- 1922. – №8. – 10pp
3. Murray M.G. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA / M.G. Murray, W.F. Thompson // *Nucleic Acids Res.* - 1980. - P.4321-4325.