

Пирамидирование различных чужеродных генов в геноме мягкой пшеницы с помощью ДНК-маркеров

Т.Т. Ефремова*, Е.В. Чуманова, Е.А. Косяева, К.В. Соболев

Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

*efremova@bionet.nsc.ru

Цель: Создание и изучение линий яровой мягкой пшеницы с несколькими генами устойчивости к бурой листовой ржавчине и голубой окраской зерна с применением молекулярных маркеров.

Материалы и методы: Для гибридизации голубозерную линию сорта Саратовская 29 (С29) с замещением хромосом 4Th(4B) от *Thinopyrum ponticum* скрестили с двумя линиями, несущими транслокации и замещение хромосом от *Th. ponticum* и *Secale cereale*, а также с сортом Мульти 6R (любезно предоставленным С.Н. Сибикеевым). Эти образцы несут идентифицированные гены устойчивости к болезням: *Lr26/Pm8/Sr31/Yr9* от *S. cereale*, *Lr19/Sr25* от *Th. ponticum* и *Lr6Agi1/Pm6Agi/Sr6Agi* от *Th. intermedium*. Линия С29 4Th(4B) несет ген *Bal*, контролирующий голубую окраску алейронового слоя зерна. Для ускорения отбора целевых генов использовали молекулярные маркеры. Кроме того, получен набор интрогрессивных линий (ИЛ 5, ИЛ 6, ИЛ 9, ИЛ 10) яровой мягкой пшеницы, устойчивых к листовой ржавчине, несущих комбинацию транслокаций 7DS. 7DL-7Ae#1L, 1RS.1BL и замещение хромосом 6Agi (6D). Объектом исследования являлись пять голубозерных линий (Blue 2, Blue 3, Blue 4, Blue 7 и Blue 8) и четыре интрогрессивные линии (ИЛ 5, ИЛ 6, ИЛ 9, ИЛ 10) яровой мягкой пшеницы устойчивые к бурой ржавчине. В полевых условиях Новосибирской обл. степень устойчивости оценивали по шкале, рекомендованной CIMMYT. Провели анализ содержания антоцианов, а также микро- и макроэлементов (Zn, Mg, Mn, Ca, Cu, Fe и K) в цельнозерновой муке изученных голубозерных линий.

Результаты: Проведенный молекулярно-генетический анализ показал, что все пять голубозерных линий несут ген *Bal* от *Th. ponticum*. Для диагностики хромосомы 4Th был использован маркер ThMYC4ESp (4Th), с помощью которого был выявлен продукт амплификации размером 450 пн, что подтверждает наличие хромосомы от пырея с доминантным геном *Bal*. Проведена идентификация генов *Lr* с использованием молекулярных маркеров. Установлено, что голубозерная линия Blue 2 по результатам ПЦР несет доминантный ген устойчивости к бурой ржавчине *Lr6Agi1* от *Th. intermedium*. У растений линий Blue 3, Blue 4, Blue 7 и Blue 8 выявлено присутствие различных сочетаний генов *Lr19* и *Lr26*. У линий Blue 3 и Blue 7 с использованием маркеров SCS265 и Sec1Gene идентифицировали фрагменты длиной 512 и 1160 п.н., что указывает на присутствие двух генов *Lr19* и *Lr26* соответственно. У линий Blue 4 и Blue 8 были выделены отдельные растения с генами *Lr19* или *Lr26*. Цитогенетический анализ показал, что большинство голубозерных линий являются цитологически стабильными и имеют в М1 мейоза 21 бивалент. В полевых условиях взрослые растения голубозерных линий проявили устойчивый тип реакции (R) к возбудителю листовой ржавчины, в то время как растения линии С29 4Th(4B) – восприимчивость к патогену (S). Показано, что содержание антоцианов превышало показатели контроля сорта С29 (7,8 мкг/г) и составило от 32,8 мкг/г (Blue4) до 51,2 мкг/г (Blue8). Линии с голубым зерном отличаются повышенным содержанием макро- и микроэлементов, чем родительские образцы с красным зерном. Так, содержание Fe и Zn у линии Blue 3 составило 85,5 и 93,4 мг/кг соответственно. Содержание белка голубозерных линий составило – 17-24%, а клейковины – 36–50%. По признакам продуктивности линии Blue 2, Blue 7 и Blue 8 оказались более урожайными, чем родительская линия С29 4Th(4B). С помощью ПЦР-анализа у гибридов F₄ ИЛ 5, ИЛ 6, ИЛ 9 и ИЛ 10 были выделены растения с комбинацией генов *Lr6Agi1* + *Lr19* + *Lr26*. Изучение интрогрессивных линий показало, что комбинация транслокаций и замещений 7DS. 7DL-7Ae#1L + 1RS.1BL + 6Agi (6D) определяет высокую устойчивость к листовой ржавчине. Установлено, что линия ИЛ 6 обладает высокими показателями числа и массы зерна растения.

Выводы: Присутствие пирамиды чужеродных транслокаций и замещений хромосом у изученных линий подтверждено ПЦР анализом с использованием праймеров. Исследования голубозерных и интрогрессивных линий показали, что комбинация генов *Lr19+Lr26* и гена *Lr6Agi1* определяет высокую устойчивость к листовой ржавчине. Линии с голубым зерном отличаются повышенным содержанием антоцианов, а также макро- и микроэлементов, чем родительские образцы с красным зерном. Полученные линии с голубой окраски зерна и высоким содержанием антоцианов, Fe и Zn могут быть использованы в практической селекции.

Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ (№ 24-26-20028) и Министерства науки и инновационной политики Новосибирской области (№ р-99).