

УДК 631.524.86:582.952.6:633.854.78

**МАРКЕРЫ ГЕНОВ *PL*, *OR*, *AHAS1*
ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В СЕЛЕКЦИИ ПОДСОЛНЕЧНИКА НА УСТОЙЧИВОСТЬ
К ЛОЖНОЙ МУЧНИСТОЙ РОСЕ, ЗАРАЗИХЕ И ГЕРБИЦИДАМ**

А.Е. Солоденко, Б.Ф. Вареник

*Селекционно-генетический институт – Национальный центр семеноведения и сортоизучения,
Одесса, Украина, angelika_solo@yahoo.com*

Работа посвящена разработке системы ДНК-маркеров для использования в генетико-селекционных программах подсолнечника, направленных на создание генотипов, устойчивых к ложной мучнистой росе, заразихе и гербицидам имидозолиновой и сульфонилмочевинной групп.

Ключевые слова: микросателлиты, маркерный отбор, *P. halstedii*, *O. cumana*, гибриды подсолнечника.

Актуальность. Маркерный отбор (marker assisted selection, MAS) базируется на выявлении маркеров генов хозяйственно-ценных признаков и последующем их применении на определенных этапах селекции. Подсолнечник – одна из наиболее рентабельных культур в Украине. При создании и регистрации гибридов подсолнечника обязательным условием является наличие устойчивости

к наиболее вредоносным патогенам – ложной мучнистой росе (*Plasmopara halstedii* (Farl.) Berl. & de Toni) и заразихе (*Orobanche cumana* L.). Устойчивость к разным расам *P. halstedii* и *O. cumana* контролируют гены *Pl* и *Or* [Tang S., 2003; Jovic et al., 2012]. Реализация потенциальной продуктивности гибридов подсолнечника возможна только, если гибриды обладают ею наряду с генетически обусловлен-

ной устойчивостью к высокоэффективным гербицидам. Устойчивость к наиболее используемым гербицидам имидазолиновой и сульфонилмочевинной групп обусловлена мутациями в генах, которые кодируют ферменты синтеза аминокислотных цепей AHAS [Kolkman et al., 2004].

Цель исследования – разработка системы ДНК-маркеров для использования в генетико-селекционных программах подсолнечника, направленных на создание генотипов, устойчивых к ложной мучнистой росе, заразице и гербицидам имидазолиновой и сульфонилмочевинной групп.

Материал и методы. В качестве материала использовали линии-дифференциаторы, которые составляют международный стандарт для идентификации патотипов и оценки устойчивости подсолнечника к разным расам *P. halstedii* и *O. cumana*; линии, полученные из National Germplasm Resources Laboratory (North Central Regional PI Station, North Dakota, USA); линии одесской селекции. ДНК из листьев растений подсолнечника выделяли цетавлоновым методом. Амплифицированные в ходе полимеразной цепной реакции фрагменты ДНК фракционировали в 10% полиакриламидных гелях с последующей визуализацией азотнокислым серебром.

Результаты. Для поиска ДНК-маркеров генов устойчивости к *P. halstedii* и *O. cumana* исследовали молекулярно-генетический полиморфизм микросателлитных локусов, сцепленных с кластерами генов *Pl* и *Or*, а также микросателлитной последовательности, которая находится в пределах гена *AHAS1*. Исследование микросателлитного локуса *ORS328*, сцепленного с кластером генов *P11/P12/P16/P17*, позволило выявить аллель, характерный для линии HA-335, в генотипе которой присутствует ген *P16*. Показано, что один из аллелей локуса *ORS781* является специфичным для генотипа QHP 1 – линии-носителя гена *P18*. Определены маркерные аллели в микросателлитных локусах *ORS1008* и *ORS965-1*, которые фланкируют ген *P113*.

Предложено использование выявленных маркеров для идентификации образцов, которые несут донорский генетический материал, из гибридных популяций и беккросов. Наибольший интерес, с точки зрения использования при отборе устойчивых к ложной мучнистой росе генотипов, представляют маркеры гена *Pl_{ARG}*, который обеспечивает иммунитет подсолнечника по отношению ко всем известным на сегодня патотипам *P. halstedii*. Среди 18 микросателлитов, картированных на генетическом расстоянии не более 10 сМ от гена *Pl_{ARG}* выявлены пять маркерных, которые позволяют идентифицировать указанный ген.

Анализ полиморфизма микросателлитных локусов 3-й группы сцепления генетической карты подсолнечника позволил выявить ДНК-маркеры, которые дифференцируют образцы подсолнечника, контрастные по устойчивости к заразице рас А-Е. Наиболее эффективный для тестирования генетически детерминированной устойчивости – микросателлитный маркер *ORS1036*, сцепленный с кластером генов *Or1-Or5*.

Амплификация фрагмента гена *AHAS1*, который содержит микросателлитный повтор, позволила выявить три аллеля и дифференцировать линии, обладающие устойчивостью к страховым гербицидам сульфонилмочевинной и имидазолиновой групп.

Область применения. Селекционно-генетические программы создания гибридов подсолнечника.

Выводы. Микросателлитные маркеры являются наиболее оптимальными для MAS-селекции в связи с методической доступностью способов их выявления, надёжностью и воспроизводимостью, кодоминантным типом наследования. Использование выявленных маркеров генов *Pl*, *Or*, *AHAS1* позволит путём маркерной селекции ускорить целевой отбор образцов в процессе создания устойчивых к ложной мучнистой росе, заразице и гербицидам гибридов подсолнечника.

Библиографический список (References)

Jocic S., Miladinovic D., Imerovski I., Dimitrijevic A., Cvejic S., Nagl N., Kondic-Spirka A. Towards sustainable downy mildew resistance in sunflower // *Helia*, 2012. V. 35. N 56. p. 61–72.
Kolkman J., Slabaugh M., Bruniard J., Berry S., Bushman B., Olungu C., Maes N., Abratti G., Zambelli A., Miller J., Leon A., Knapp S. Acetohydroxyacid

synthase mutations conferring resistance to imidazolinone or sulfonylurea herbicides in sunflower // *Theor. Appl. Genet.*, 2004. V.109. p. 1147–1159.
Tang S., Heesacker A., Kishore V.K., Fernandez A., Sadik E.S., Cole G., Knapp S. J. Genetic mapping of the *Or 5* gene for resistance to *Orobanche* race E in sunflower // *Crop Science*, 2003. V. 43. p. 1021–1028.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 156–157

MARKERS OF THE *PL*, *OR*, *AHAS1* GENES FOR SUNFLOWER BREEDING FOR RESISTANCE TO DOWNY MILDEW, BROOMRAPE AND HERBICIDES

A.E. Solodenko, B.F. Varenik

Plant Breeding and Genetics Institute of NAAS of Ukraine, angelika_solo@yahoo.com

Marker assisted selection in modern plant breeding based on the results of the molecular genetic studies. Sunflower is one of the most profitable crops in Ukraine. Sunflower hybrids have to provide resistance to the most harmful pathogens – downy mildew (*Plasmopara halstedii* (Farl.) Berl. & De Toni) and broomrape (*Orobanche cumana* L.). For realization of the potential productivity the sunflower hybrids have to possess a genetically determined resistance to a highly effective herbicide. The aim of our work – the development of DNA markers for using in sunflower genetic and breeding programs aimed at creating the genotypes resistant to downy mildew, broomrape and sulfonylurea and imidazolinone herbicides. To search for DNA markers genes for resistance to *P. halstedii* and *O. cumana* it was investigated molecular genetic polymorphism in the microsatellite loci linked with clusters of genes *Pl* and *Or*, and in the simple sequence repeat in *AHAS1* gene. It was provided the microsatellite marker alleles that specific for donor genotypes of *P16* gene (HA-335) and *P18* gene (QHP 1). It was defined marker alleles in microsatellites *ORS1008* and *ORS965-1*, which flank the gene *P113*. It was revealed five markers that allow identification of the gene *Pl_{ARG}* that provides the immunity against all currently known pathotypes of *P. halstedii*. Microsatellite *ORS1036* was defined as marker to cluster of genes *Or*. Some microsatellite markers were proposed to differentiate the lines with resistance to imidazolinone and sulfonylurea herbicides. Revealed markers of genes *Pl*, *Or*, *AHAS1* would allow marker assisted selection in breeding programs aimed on the creating resistant to downy mildew, broomrape and herbicides sunflower hybrids.