

УДК 577.21:575.22:632.4:581.2

Л. В. СУДАРЧУК¹, аспірант,С. В. ЧЕБОТАР¹, д-р біол. наук, провідний науковий співробітник,О. І. РИБАЛКА², д-р біол. наук, завідувач відділу,Ю. М. СИВОЛАП¹, академік НААН України, д-р біол. наук, директор¹ Південний біотехнологічний центр в рослинництві НААН України,

Овідіопольська дор., 3, Одеса, 65036, Україна, тел.: (0482) 395 557,

e-mail: genome2006@mail.ru

² Селекційно-генетичний інститут — Національний центр насінництва та сортовивчення НААН України, Овідіопольська дор., 3, Одеса, 65036, Україна

ДЕТЕКЦІЯ МОДИФІКОВАНОЇ ТРАНСЛОКАЦІЇ 1R_S.1B_L ЗА ДОПОМОГОЮ МОЛЕКУЛЯРНИХ МАРКЕРІВ У СЕЛЕКЦІЙНОМУ МАТЕРІАЛІ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ

За допомогою ПЛР-детекції з молекулярними маркерами (Xgwm1303, SR1R003, ω-sec-P3/P4, GliB1.1, GliB1.2, Xgwm18, Xgwm550) у популяції F₄ виявили модифіковану центричну транслокацію 1R_S.1B_L, в якій секаліновий локус Sec-1 заміщений на фрагмент хромосоми 1B_S пшениці, що несе локус Gli-B1/Glu-B3 і містить проксимальний фрагмент 1R_S хромосоми жита. Зазначений проксимальний фрагмент несе гени стійкості до борошнистої роси (Pm8), листової, стеблової, жовтої іржі (Lr26, Sr31, Yr9, відповідно). Запропонований підхід дозволяє ефективно ідентифікувати в селекційному матеріалі м'якої пшениці генотипи з модифікованою транслокацією 1R_S.1B_L.

Ключові слова: ПЛР-детекція, молекулярні маркери, транслокація 1R_S.1B_L, *Triticum aestivum* L., *Secale cereale* L.

Стійкість рослин до хвороб і шкідників — необхідна умова для успішного використання культур на сучасному етапі розвитку сільського господарства. Для підвищення стійкості пшениці до різних патогенів м'яку пшеницю (*Triticum aestivum* L., AABBDD, 2n=6x=42) залучають до віддаленої гібридизації з видами жита, пирію, егілопсу [1]. Жито (*Secale cereale* L., 2n=2x=14, RR) є одним із донорів генів стійкості (Lr26, Yr9, Yr10, Sr27, Sr31, Pm8, Pm17, Gb2, Gb6) до різних патогенів [2—4].

Житньо-пшенична транслокація, а саме транслокація короткого плеча хромосоми 1R жита на довге плече 1B хромосоми пшениці, широко використовується в селекції м'якої пшениці більш ніж 30 років. Джерелом даної транслокації у більшості сучасних сортів м'якої пшениці є лінія Riebesel 47-51, створена Г. Рибезелем (Riebesel), яка містить транслокацію від жита Petkus (2x) [5, 6]. У літературних джерелах зафіксовано, що за присутності транслокації 1R_S.1B_L спостерігається підвищення врожайності та адаптивності пшениці до впливу факторів зовнішнього середовища [7—11]. Фенотипову оцінку та селекційний (візуальний) відбір форм із транслокацією іноді ускладнено тим, що неможливо виявити рослини з транслокацією серед рослин, у яких вона відсутня. Крім цього, транслоковане плече 1R_S житньої хромосоми містить локус Sec-1, що контролює біосинтез запасних білків жита — секалінів, які в свою чергу негативно впливають на хлібопекарську якість пшеничного борошна (секаліни при замісі тіста можуть переходити в розчин із водою, при цьому тісто стає липким та пливе, погано підходить) [12, 13]. Роботи по отриманню модифікованої 1R_S

хромосоми, в якій присутні гени стійкості (*Lr26*, *Yr9*, *Sr31*, *Pm8*) до патогенів і вилучений негативний по відношенню до якості локус *Sec-1*, було виконано професором А. Лукашевським (США) [14, 15]. Ним отримано лінію Ravon MA1, яка несе модифіковану транслокацію $1R_S.1B_L$ (рис. 1). Ця лінія використовується в програмі Селекційно-генетичного інституту — Національного центру насіннезнавства та сортовивчення (СГІ—НЦНС) НААН України. Часто контроль житніх транслокацій проводять шляхом електрофорезу запасних білків — секалінів [16, 17]. Однак, у нашому випадку секаліновий локус відсутній у селекційних форм, що отримані у схрещуваннях із лініями, які несуть модифіковану транслокацію $1R_S.1B_L$. У свою чергу, дана транслокація несе два фрагмента короткого плеча хромосоми 1В пшениці, що створює імовірність рекомбінації та може призводити до втрати модифікованої транслокації $1R_S.1B_L$ та її агрономічної цінності. У зв'язку з цим є необхідною точна детекція модифікованої транслокації $1R_S.1B_L$ у селекційному матеріалі за допомогою молекулярних маркерів.

Метою даної роботи була розробка біотехнології детекції модифікованої житньо-пшеничної транслокації $1R_S.1B_L$ у селекційному матеріалі та відбір рослин, які несуть досліджену транслокацію в популяції F_4 , що отримана від схрещування Куяльник \times Ravon MA1.

Матеріали і методи

Матеріалом дослідження слугувала популяція F_4 , у котрій нараховується 61 рослина, яка була отримана від схрещування сорту озимої м'якої пшениці

Куяльник із лінією Ravon MA1 (матеріал створений у відділі генетичних основ селекції СГІ—НЦНС д-ром біол. наук О. І. Рибалкою), і її батьківські форми. Лінія ярої пшениці Ravon MA1 (СІММУТ, Мехіко) несе модифіковану $1R_S.1B_L$ хромосому. Характеристика модифікації короткого плеча $1R_S$ представлена на рис. 1. Вона включає до свого складу дві інтеркалярні вставки гомеологічного плеча хромосоми $1B_S$ пшениці — локус пшениці *Gli-B1/Glu-B3* (фрагмент, що локалізується ближче до теломерної ділянки хромосоми) і фрагмент хромосоми пшениці, що замінив секаліновий локус *Sec-1*, а також присутній фрагмент хромосоми жита, який містить гени стійкості до листової (*Lr26*), стеблової (*Sr31*), жовтої (*Yr9*) іржі та борошнистої роси (*Pm8*).

Крім того, у дослідження було включено лінію *Hostianum* 242/97-2-В (надалі Н242/97-2-В), раніше досліджену І. І. Моцим і О. М. Благодаровою [18] та лінію Б-16, які несуть звичайну, немодифіковану житньо-пшеничну транслокацію $1R_S.1B_L$, і сорт Безоста 1.

ДНК виділяли з 3—5-денних паростків за допомогою СТАВ-буферу [19]. Вимірювання концентрації виділеної ДНК проводили за допомогою флуориметра ТКО 100 (Hoefer Scientific Instruments, USA) у розчині 1xTNE (100 мМ трис-НСІ рН 7,4; 10 мМ ЕDТА рН 8,0; 1 М NaCl) у присутності 100 мкг/мл інтеркалюючого барвника Hoechst 33258.

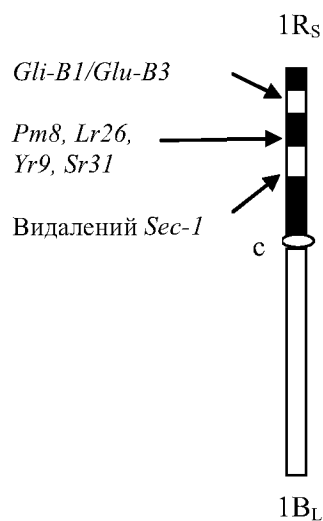


Рис. 1. Структура модифікованої $1R_S$ хромосоми житньо-пшеничної транслокації $1R_S.1B_L$. $1B_L$ — довге пшеничне плече; □ — пшеничний хроматин, ■ — житній хроматин [15]

Для детекції модифікованого короткого плеча хромосоми 1R_s застосовували ПЛР-аналіз із використанням секалін-специфічних STS-маркерів SR1R003 [20], ω-sec-P3/P4 [21] та EST-SSR-маркера *Xrems1303* [22], а також аналізували локус *Gli-B1* (рис. 2, а), характерний для короткого плеча хромосоми 1В пшениці, з праймерами до алелів: *GliB1.1*, *GliB1.2* [23], і проводили мікросателітний аналіз з парами праймерів до локусів м'якої пшениці: *Xgwm18*-1B_s, *Xgwm550*-1B_s (рис. 2, б).

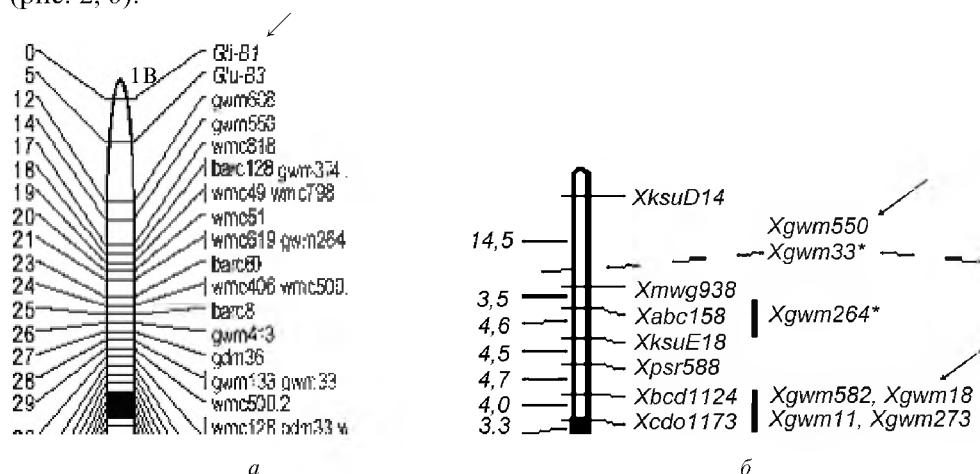


Рис. 2. Молекулярно-генетична карта хромосоми 1B_s м'якої пшениці:

а — локус *Gli-B1* [24]; б — локуси *Xgwm550* і *Xgwm18* [25], зверху—вниз, відповідно. Чорним кольором визначено місце локалізації центромери

Електрофорез продуктів ампліфікації проводили у 10 % денатуруючому поліакриламідному гелі (ПААГ) з 8 М сечовиною. Візуалізацію продуктів ампліфікації здійснювали за допомогою фарбування 0,012 М AgNO₃ відповідно до методики «Silver sequence TM DNA Sequencing System Technical Manual» (Promega).

Документували отримані результати електрофорезу за допомогою відеосистеми «Image VDS Amersham Pharmacia Biotech» (Австрія). Для визначення розміру фрагментів ампліфікації ДНК (п. н.) використовували маркер молекулярної маси — pUC19/MspI та комп'ютерну програму «Image Master 1D Elite».

Результати та їх обговорення

ПЛР-аналіз популяції F₄, отриманої від схрещування Куяльник × Равон МА1, з молекулярним маркером до локусу *Xrems1303* (локалізований на 1R_s хромосомі жита) показав, що розщеплення в популяції F₄ за ознакою присутність/відсутність продукту ампліфікації відповідало теоретично очікуваному 9:7 ($\chi^2 = 0,115$; $P = 0,99 \sim 0,95$). Результати наведено в табл. 1.

Одночасно показано присутність фрагментів ампліфікації з парами праймерів *Xgwm18* (рис. 3) і *Xgwm550* у ряду рослин.

При ПЛР-аналізі батьківських форм і популяції F₄ за *Xgwm18* локусом було виявлено фрагменти ампліфікації розміром 186 п. н., що відповідає алелю, характерному для сорту озимої м'якої пшениці Куяльник, у 28 рослин та відсутність фрагментів ампліфікації у 33 зразків, як і у батьківської форми — лінії

Таблиця 1

Аналіз розщеплення в популяції F₄ (Куяльник × Равон МА1) за присутністю/відсутністю фрагмента ампліфікації розміром 290 п. н., детектованого по *Xrems1303* маркеру

| Дані | Наявність/відсутність (+/-) продукту ампліфікації довжиною 290 п. н. | | Об'єм вибірки |
|----------------------------------|--|-------|---------------|
| | + | - | |
| Фенотипові класи розщеплення | 33 | 28 | 61 |
| Очікувані при (9:7) <i>q</i> | 34,31 | 26,69 | 61 |
| Відхилення <i>d</i> | -1,31 | +1,31 | — |
| <i>d</i> ² | 1,71 | 1,71 | — |
| <i>d</i> ² / <i>q</i> | 0,050 | 0,065 | — |

Примітки тут і далі: $\chi^2 = 0,115$; де *q* — теоретично очікувана величина, $0,99 > P > 0,95$.

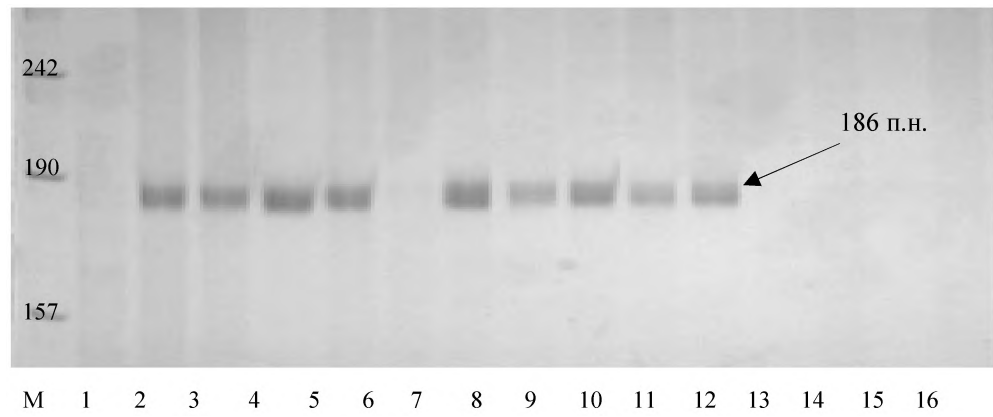


Рис. 3. Електрофореграма розподілу продуктів ампліфікації ДНК рослин F₄ і батьківських форм за *Xgwm18* локусом у 10 % денатуруючому ПААГ:

М — маркер молекулярної маси pUC19/MspI, 1 — лінія Равон МА1, 2 — сорт Куяльник, 3—16 — індивідуальні рослини популяції F₄

Равон МА1. При статистичній обробці експериментальних даних отримано результати, представлені в табл. 2.

Таблиця 2

Аналіз розщеплення в популяції F₄ (Куяльник × Равон МА1) за локусом *Xgwm18*

| Дані | Відсутність/наявність (-/+) продукту ампліфікації довжиною 186 п. н. | | Об'єм вибірки |
|----------------------------------|--|-------|---------------|
| | - | + | |
| Фенотипові класи розщеплення | 33 | 28 | 61 |
| Очікувані при (9:7) <i>q</i> | 34,31 | 26,69 | 61 |
| Відхилення <i>d</i> | -1,31 | +1,31 | — |
| <i>d</i> ² | 1,71 | 1,71 | — |
| <i>d</i> ² / <i>q</i> | 0,050 | 0,065 | — |

Примітки: $\chi^2 = 0,115$; $0,99 > P > 0,95$.

Детекція модифікованої транслокації 1R_s.1B₁ у матеріалі м'якої пшениці

ПЛР-аналіз локусу *Xgwm550* у дослідженому матеріалі виявив у 29 рослин амплікон розміром 195 п. н., що відповідає сорту Куяльник, у 32 зразків фрагмента ампліфікації не виявлено (відповідає відсутності фрагмента ампліфікації ДНК лінії Ravon MA1). Застосування критерію χ^2 при підрахунку достовірності розщеплення за *Xgwm550* локусом у дослідженій популяції F₄ дозволило отримати результати, представлені в табл. 3.

Таблиця 3

Аналіз розщеплення в популяції F₄ (Куяльник × Ravon MA1) за локусом *Xgwm550*

| Дані | Відсутність/наявність (–/+) продукту ампліфікації довжиною 195 п. н. | | Об'єм вибірки |
|------------------------------|--|-------|---------------|
| | – | + | |
| Фенотипові класи розщеплення | 32 | 29 | 61 |
| Очікувані при (9:7) q | 34,31 | 26,69 | 61 |
| Відхилення d | –2,31 | +2,31 | — |
| d ² | 5,34 | 5,34 | — |
| d ² /q | 0,156 | 0,200 | — |

Примітки: $\chi^2 = 0,356$; $0,95 > P > 0,80$.

Нами не виявлено продуктів ампліфікації з праймерами до гену ω -secalin у лінії Ravon MA1 і рослин із популяції F₄. У той же час ампліфікація з парою праймерів ω -sec-P3/P4 до локусу *Sec-1* дозволила ідентифікувати продукт розміром 400 п. н. у ліній Б-16 і Н242/97-2-В (рис. 4), що узгоджується зі встановленою раніше присутністю 1R_s.1B₁ транслокації хромосоми жита у ліній Б-16 [26] і Н242/97-2-В [18]. У батьківських форм (сорт Куяльник і лінії Ravon MA1) фрагмент ампліфікації за даним локусом відсутній, оскільки секаліновий локус не представлений в жодному геномі.

Одночасно ПЛР-аналізом локусу *Sec-1* із використанням секалін-специфічного STS-маркера SR1R003 у ліній Б-16 і Н242/97-2-В було виявлено фрагменти ампліфікації розміром 97 п. н., що свідчить про присутність у даних зразків секалінового локусу. У лінії Ravon MA1, сортів Куяльник і Безоста 1 за даним локусом продуктів ампліфікації також не виявлено. Не виявлено продуктів ампліфікації і у рослин з популяції F₄, що підтверджує відсутність житнього локусу у батьківських форм і, відповідно, дослідженій популяції, отриманої від схрещування Куяльник × Ravon MA1.

Дослідження локусу *Gli-B1* на хромосомі 1B_s у рослин з популяції F₄ і батьківських форм (сорт Куяльник і лінії Ravon MA1) за допомогою алель-специфічної ПЛР показало присутність фрагмента ампліфікації розміром 369 п. н. у сорту Куяльник (тобто алель *GliB1.1*), 397 п. н. (алель *GliB1.2*) — у лінії Ravon MA1, а у

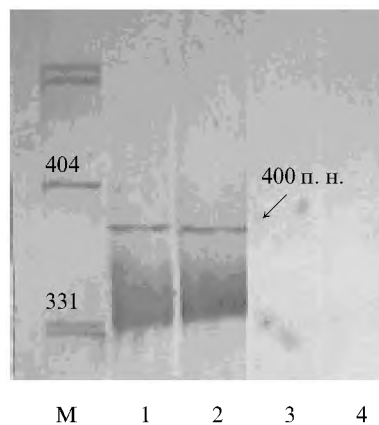


Рис. 4. Електрофореграма розподілу продуктів ампліфікації ДНК за ω -secalin локусом у 10 % денатуруючому ПААГ:

М — маркер молекулярної маси pUC19/MspI, 1 — лінія Б-16, 2 — лінія Н242/97-2-В, 3 — лінія Ravon MA1, 4 — сорт Куяльник

лінії Б-16 і Н242/97-2-В, які несуть $1R_5.1B_L$ транслокацію, продуктів ампліфікації не виявлено (рис. 5).

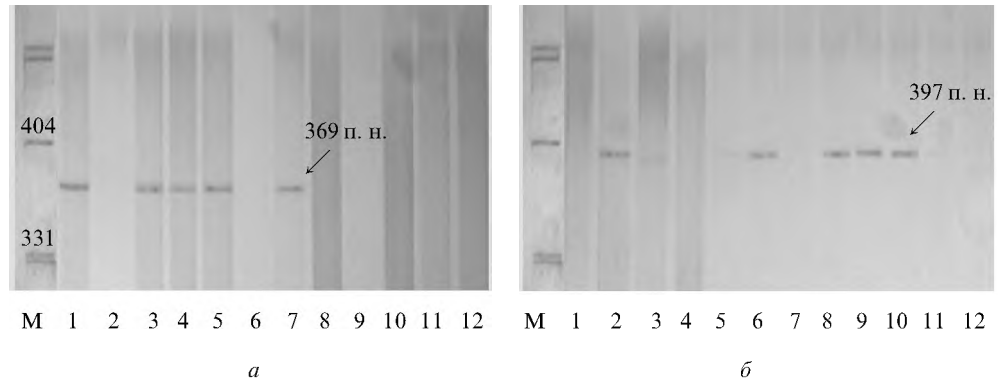


Рис. 5. Електрофореграма розподілу продуктів ампліфікації ДНК популяції F_4 і батьківських форм у 10% денатуруючому ПААГ, що отримані з алель-специфічними праймерами:

a — *GliB1.1*; *б* — *GliB1.2* (М — маркер молекулярної маси рUC19/MspI, 1 — сорт Куяльник, 2 — лінія Pavon MA1, 3—10 — індивідуальні рослини популяції F_4 , 11 — лінія Б-16, 12 — лінія Н242/97-2-В

У нашому дослідженні присутністю алеля *GliB1.1* характеризуються зразки популяції F_4 , отримані від схрещування Куяльник \times Pavon MA1, за номерами 3—5, 7. Розмір фрагментів ампліфікації — 369 п. н., що відповідає батьківській формі — сорту Куяльник (всього 30 таких рослин). За даним локусом з алелем *GliB1.2* у рослин за номерами 6, 8—10 було тестовано продукт ампліфікації розміром 397 п. н. (відповідає лінії Pavon MA1, всього в популяції F_4 виявлено 31 індивідуальну рослину).

За результатами молекулярно-генетичного аналізу популяції F_4 і батьківських форм (сорт Куяльник і лінії Pavon MA1) з праймерами до локусу *Xrems1303* було виявлено 33 рослини, які несуть житній хроматин, і 28 рослин, з ДНК яких не було отримано фрагментів ампліфікації, що відповідало теоретично очікуваному розщепленню 9:7. З мікросателітними маркерами пшениці *Xgwm18* і *Xgwm550* детектовано присутність фрагментів ампліфікації 186 п. н. та 195 п. н., характерних для батьківського сорту Куяльник у 28 і 29 рослин, відповідно. Розщеплення, що спостерігається, відповідає теоретично очікуваному розщепленню 9:7 з $\chi^2 = 0,115$ і $\chi^2 = 0,356$. Праймери до *Sec-1* локусу ω -sec-P3/P4 і SR1R003 не давали продуктів ампліфікації з ДНК рослин популяції, яку було протестовано, у зв'язку з тим, що даний локус відсутній у обох батьківських форм, а перезапилення пишком від форм пшениці з $1R_5$ немодифікованою транслокацією не спостерігалось. За допомогою алель-специфічних маркерів до *Gli-B1* локусу пшениці виявили 30 рослин з алелем *GliB1.1*, характерним для сорту Куяльник, і 31 рослину з алелем *GliB1.2*, присутнім у генотипі лінії Pavon MA1, що відповідає теоретично очікуваному розщепленню 9:7 з $\chi^2 = 0,730$. Результати дослідження популяції F_4 представлено в табл. 4.

У дослідженому матеріалі ідентифіковано чотири рослини, у яких відбулись рекомбінаційні події у короткому $1R_5$ плечі модифікованої житньо-пшеничної транслокації та в плечі $1B_5$ пшениці. Так, рослина під номером 3/4 (3 — № ділянки, 4 — № рослини) не несе житньої транслокації, але в результаті рекомбінації в локусі *Gli-B1* дана рослина успадкувала батьківський алель *GliB1.2*

Детекція модифікованої транслокації 1R_s.1B₁ у матеріалі м'якої пшениці

Таблиця 4

Аналіз результатів дослідження популяції F₄ (Куяльник х Рапон МА1)

| F ₄ : Куяльник × Рапон МА1 (61 інд. рослина) | | Алелі маркерних локусів в п. н. | | | | | F ₄ : Куяльник × Рапон МА1 (61 інд. рослина) | | Алелі маркерних локусів в п. н. | | | | |
|---|-----------|------------------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|---------|---|-----------|------------------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|---------|
| № ділянки | № рослини | Хгwm1303 (1R _s) | Хгwm18 (1B _s) | Хгwm550 (1B _s) | Gli-B1 (1B _s) | | № ділянки | № рослини | Хгwm1303 (1R _s) | Хгwm18 (1B _s) | Хгwm550 (1B _s) | Gli-B1 (1B _s) | |
| | | | | | GliB1.1 | GliB1.2 | | | | | | GliB1.1 | GliB1.2 |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| 1 | 1. | 290 | — | — | — | 397 | 8 | 1. | 290 | — | — | — | 397 |
| | 2. | 290 | — | — | — | 397 | | 2. | 290 | — | — | 369 | — |
| | 3. | 290 | — | — | — | 397 | | 3. | 290 | — | 195 | 369 | — |
| | 4. | 290 | — | — | — | 397 | | 4. | 290 | — | — | — | 397 |
| 2 | 1. | — | 186 | 195 | 369 | — | 9 | 1. | 290 | — | — | — | 397 |
| | 2. | — | 186 | 195 | 369 | — | | 2. | 290 | — | — | — | 397 |
| | 3. | — | 186 | 195 | 369 | — | | 3. | 290 | — | — | — | 397 |
| | 4. | — | 186 | 195 | 369 | — | | 4. | 290 | — | — | — | 397 |
| | 5. | — | 186 | 195 | 369 | — | | 5. | 290 | — | — | — | 397 |
| 3 | 1. | — | 186 | 195 | 369 | — | 10 | 1. | 290 | — | — | — | 397 |
| | 2. | — | 186 | 195 | 369 | — | | 2. | 290 | — | — | — | 397 |
| | 3. | — | 186 | 195 | 369 | — | | 3. | 290 | — | — | 369 | — |
| | 4. | — | 186 | 195 | — | 397 | | 4. | 290 | — | — | — | 397 |
| | 5. | — | 186 | 195 | 369 | — | | 5. | 290 | — | — | — | 397 |
| 4 | 1. | 290 | — | — | — | 397 | 11 | 1. | 290 | — | — | — | 397 |
| | 2. | 290 | — | — | — | 397 | | 2. | 290 | — | — | — | 397 |
| | 3. | 290 | — | — | — | 397 | | 3. | 290 | — | — | — | 397 |
| | 4. | 290 | — | — | — | 397 | | 4. | 290 | — | — | — | 397 |
| | 5. | 290 | — | — | — | 397 | | 5. | 290 | — | — | — | 397 |
| 5 | 1. | 290 | — | — | — | 397 | 12 | 1. | — | 186 | 195 | 369 | — |
| | 2. | 290 | — | — | — | 397 | | 2. | — | 186 | 195 | 369 | — |
| | 3. | 290 | — | — | — | 397 | | 3. | — | 186 | 195 | 369 | — |
| | 4. | 290 | — | — | — | 397 | | 4. | — | 186 | 195 | 369 | — |
| | 5. | 290 | — | — | — | 397 | 13 | 1. | — | 186 | 195 | 369 | — |
| 6 | 1. | — | 186 | 195 | 369 | — | | 2. | — | 186 | 195 | 369 | — |
| | 2. | — | 186 | 195 | 369 | — | | 3. | — | 186 | 195 | 369 | — |
| | 3. | — | 186 | 195 | 369 | — | | 4. | — | 186 | 195 | 369 | — |
| | 4. | — | 186 | 195 | 369 | — | | | | | | | |
| | 5. | — | 186 | 195 | 369 | — | | | | | | | |
| 7 | 1. | — | 186 | 195 | 369 | — | | | | | | | |
| | 2. | — | 186 | 195 | 369 | — | | | | | | | |
| | 3. | — | 186 | 195 | 369 | — | | | | | | | |
| | 4. | — | 186 | 195 | 369 | — | | | | | | | |
| | 5. | — | 186 | 195 | 369 | — | | | | | | | |

Примітки: «—» — не детектовано продуктів ампліфікації ДНК.

(початково належить лінії Ravon MA1). Рослини під номерами 8/2 та 10/3 несуть модифіковану транслокацію, але в результаті рекомбінації в їх генотипах алель *GliB1.2*, характерний для вихідної батьківської форми — лінії Ravon MA1, замінив алель *GliB1.1*, присутній у сорту Куяльник. У рослини під номером 8/3, можливо, рекомбінація зачепила більш широкий регіон. Ця рослина має модифіковану житньо-пшеничну транслокацію, однак вихідний алель *GliB1.2*, характерний для батьківської форми — лінії Ravon MA1, донора модифікованої транслокації, в дослідженій популяції заміщений алелем *GliB1.1* сорту Куяльник. До того ж, використовуючи маркер *Xgwm550*, детектували заміщення фрагмента житньої хромосоми, розташованого більш дистально від локусу *Gli-B1*, на фрагмент хромосоми пшениці, оскільки було виявлено фрагмент ампліфікації 195 п. н. при ПЛР-аналізі локусу *Xgwm550*, властивого сорту Куяльник.

Таким чином, при дослідженні популяції F₄, отриманої від схрещування лінії Ravon MA1 із сортом м'якої пшениці Куяльник, спостерігали рекомбінаційні події, що зачепили коротке плече хромосоми пшениці 1B_S і модифіковану транслокацію короткого плеча хромосоми жита 1R_S у 6,56 % рослин від загальної кількості досліджених рослин популяції F₄.

Висновки

За допомогою молекулярно-генетичних маркерів (*Xrems1303*, SR1R003, *ω-sec-P3/P4*, *GliB1.1*, *GliB1.2*, *Xgwm18*, *Xgwm550*) та ПЛР-аналізу у дослідженому генетичному матеріалі детектовано модифіковану центричну транслокацію 1R_S.1B_L. У даному випадку при дослідженні популяції F₄, отриманої від схрещування сорту м'якої пшениці Куяльник із лінією Ravon MA1, відібрано 30 рослин із модифікованою транслокацією 1R_S.1B_L, а у 6,56 % рослин виявлено рекомбінаційні події у короткому плечі 1R_S модифікованої житньо-пшеничної транслокації 1R_S.1B_L. Застосування в селекційному процесі запропонованої біотехнології детекції дозволяє прискорити темпи відбору генетичного матеріалу з модифікованою транслокацією короткого плеча 1R хромосоми жита, в якій відсутній секаліновий локус.

Автори висловлюють подяку канд. біол. наук І. І. Моцному за наданий для порівняння матеріал.

Література

1. Friebe B., Raupp W. J., Gill B. S. Alien genes in wheat improvement / In: Wheat in Global Environment, Z. Bedo and L. Lang, eds. — Proc. 6th Intern. Wheat Conference (5–9 June, Budapest, Hungary). — Kluwer Academic Publishers. — 2001. — P. 709–720.
2. Sears E. The aneuploids of wheat // Res. Bull. Mo. Coll. Agr. Exp. Sta. — 1954. — V. 572. — P. 1–59.
3. Mettin D., Bluthner D. W., Schleger G. Studies on the nature and the possible origin of the spontaneously translocated 1B·1R chromosome in wheat // Wheat Inf. Serv. — 1978. — V. 47–48. — P. 12–15.
4. Heun M., Friebe B., Bushuk W. Chromosomal location of the powdery mildew resistance gene of Amigo wheat // Phytopathology. — 1990. — V. 80. — P. 1129–1133.
5. Sebesta E. E., Wood E. A. Transfer of greenbug resistance from rye to wheat with X-rays // Agron. Abstr. — 1978. — P. 61–62.
6. Rabinovich S. V. Importance of wheat-rye translocations for breeding modern cultivars of *Triticum Aestivum* L. // Euphytica. — 1998. — V. 100. — P. 323–340.
7. Koebner R. M. D., Shepherd K. W., Appels R. Controlled introgression to wheat of rye chromosome arm 1RS by induction of allosyndesis. 2. Characterisation of recombinants // Theor. Appl. Genet. — 1986. — V. 73. — P. 209–217.

8. Villareal R. L., Rajaram S., MuJeeb-Kazi A., Del-Toro E. The effect of chromosome 1B/1R translocation on the yield potential of certain spring wheats (*Triticum aestivum* L.) // Plant Breed. — 1991. — V. 106. — P. 77—81.
9. Graybosch R., Peterson C., Hansen L., Worral D., Shelton D., Lukaszewski A. Comparative flour quality and protein characteristics of 1BL/1RS wheat-rye translocations // J. Cereal. Sci. — 1993. — V. 17. — P. 95—106.
10. Moreno-Sevilla B., Baenziger P. S., Peterson C. J., Graybosch R. A., McVey D. V. The 1BL/1BR translocation: agronomic performance of F₃ derived line from a winter wheat cross // Crop. Sci. — 1995. — V. 35. — № 4. — P. 1051—1055.
11. Козуб Н. А., Созинов И. А., Колочий В. Т., Созинов А. А. Сорты мягкой пшеницы украинской селекции с ржаными 1BL/1RS и 1AL/1RS транслокациями // Фактори експериментальної еволюції організмів: Зб. наук. пр. / Укр. т-во генетиків і селекціонерів ім. М. І. Вавилова / За ред. М. В. Роїка. — К.: Логос, 2006. — Т. 3 — С. 216—220.
12. Zeller F., Gunzel G., Fischbeck G., Gersternkorn P., Weipert D. Veränderung der Backeigenschaften der Weizen-Roggen Chromosomen-Translocation 1B/1R // Getreide Mehl. Brot. — 1982. — V. 36. — P. 141—143.
13. Рибалка О. І., Червоніс М. В., Парфентьев М. Г. Чи існує проблема хлібопекарського тритикале // Збірник наукових праць СГП—НАЦ НАІС. — Одеса, 2004. — Вип. 6 (46). — С. 239—245.
14. Lukaszewski A. Manipulation of the 1RS. 1BL translocation in wheat by induced homoologous recombination // Crop. Sci. — 2000. — V. 40. — P. 216—225.
15. Lukaszewski A. Breeding behavior of the cytogenetically engineered wheat-rye translocation chromosomes 1RS.1BL // Crop. Sci. — 2001. — V. 4. — P. 1062—1065.
16. Созинов А. А. Полиморфизм белков и его использование в генетике и селекции. — М.: Наука, 1985. — С. 272.
17. Козуб Н. О., Созинов И. О., Колочий В. Т., Власенко В. А., Собко Т. О., Созинов О. О. Ідентифікація 1AL/1RS транслокації у сортів м'якої пшениці української селекції // Цитологія і генетика. — 2005. — № 4. — С. 20—24.
18. Моцний І. І., Благодарова О. М. Успадкування стійкості до хвороб та морфологічних ознак у гібридів м'якої пшениці з інтрогресивними лініями // Зб. наук. праць СГП—НАЦ НАІС. — Одеса, 2004. — Вип. 6 (46). — С. 179—193.
19. Использование ПЦР-анализа в генетико-селекционных исследованиях // Научно-методическое руководство. Под редакцией Сиволопа Ю. М. — К.: Аграрная наука, 1998. — С. 34—40.
20. Landjeva S., Korzun V., Tsanev V., Vladova R., Ganeva G. Distribution of the wheat-rye translocation 1RS. 1BL among bread wheat varieties of Bulgaria // Plant Breeding. — 2006. — V. 125. — P. 102—104.
21. Chai J. F., Zhou R. H., Jia J. Z., Liu X. Development and application of a new codominant PCR marker for detecting 1BL·1RS wheat-rye chromosome translocations // Plant Breeding. — 2006. — V. 125. — P. 302—304.
22. Khlestkina E. K., Than M. H. M., Pestsova E. G., Röder M. S., Malyshev S. V., Korzun V., Börner A. Mapping of 99 new microsatellite-derived loci in rye (*Secale cereale* L.) including 39 expressed sequences tags // Theor. Appl. Genet. — 2004 — V. 109. — P. 725—732.
23. Zhang W., Gianibelli M. C., Ma W., Rampling L., Gale K. R. Identification of SNPs and development of allele-specific PCR markers for r-gliadin alleles in *Triticum aestivum* // Theor. Appl. Genet. — 2003. — V. 107. — P. 130—138.
24. Röder M. S., Korzun V., Wendehake K., Plaschke J., Tixier M. -H., Leroy P., Ganal M. W. A microsatellite map of wheat // Genetics. — 1998. — V. 149, No 4. — P. 2007—2023.
25. Somers D. J., Isaac P., Edwards K. A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.) // Theor. Appl. Genet. — 2004. — V. 109. — P. 1105—1114.
26. Козуб Н. А., Созинов И. А. Особенность расщепления по аллелям глиадинкодирующего локуса *Gli-B1* у гибридов озимой мягкой пшеницы // Цитология и генетика. — 2000. — Т. 34, Т. 2. — С. 69—76.

Сударчук Л. В.¹, Чеботарь С. В.¹, Рыбалка А. И.², Сиволап Ю. М.¹

¹ Южный биотехнологический центр в растениеводстве НААН Украины, Овидиопольская дор., 3, Одесса, 65036, Украина, тел.: (0482) 395 557, e-mail: genome2006@mail.ru

² Селекционно-генетический институт — Национальный центр семеноводства и сортоизучения НААН Украины, Овидиопольская дор., 3, Одесса, 65036, Украина

ДЕТЕКЦИЯ МОДИФИЦИРОВАННОЙ ТРАНСЛОКАЦИИ 1R_s.1B_L С ПОМОЩЬЮ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ В СЕЛЕКЦИОННОМ МАТЕРИАЛЕ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

С помощью ПЦР-детекции с молекулярными маркерами (*Xrems1303*, SR1R003, ω-sec-P3/P4, *GliB1.1*, *GliB1.2*, *Xgwm18*, *Xgwm550*) в популяции F₄ выявили модифицированную центрическую транслокацию 1R_s.1B_L, в которой секалиновый локус *Sec-1* заменен на фрагмент хромосомы 1B_s пшеницы, что несет локус *Gli-B1/Glu-B3*, и которая также содержит проксимальный фрагмент 1R_s хромосомы, несущий гены устойчивости к мучнистой росе (*Pm8*), листовой, стеблевой, желтой ржавчине (*Lr26*, *Sr31*, *Yr9*, соответственно). Предложенный подход позволяет эффективно идентифицировать в селекционном материале мягкой пшеницы генотипы с модифицированной транслокацией 1R_s.1B_L.

Ключевые слова: ПЦР-детекция, молекулярные маркеры, транслокация 1R_s.1B_L, *Triticum aestivum* L., *Secale cereale* L.

L. Sudarchuk., S. Chebotar ¹, A. Rybalka², Yu. Sivolap¹

¹ South Plant Biotechnology Center NAAS of Ukraine
Odessa, Ovidiopolskaya st., 3, genome2006@mail.ru

² Plant Breeding and Genetics Institute NAAS of Ukraine
Odessa, Ovidiopolskaya st., 3

DETECTION CENTRIC TRANSLOCATION 1R_s.1B_L BY USING MOLECULAR MARKERS IN BREEDING MATERIAL OF SOFT WHEAT

Using PCR-detection of molecular markers (*Xrems1303*, SR1R003, ω-sec-P3/P4, *GliB1.1*, *GliB1.2*, *Xgwm18*, *Xgwm550*) in F₄ population showed the centric translocation 1R_s.1B_L, which locus *Sec-1* is replaced by a fragment of chromosome 1B_s of wheat *Gli-B1/Glu-B3* locus and which also contains a proximal segment of chromosome 1R_s carrying resistance genes to powdery mildew (*Pm8*), leaf, stem, yellow rust (*Lr26*, *Sr31*, *Yr9*, respectively). The proposed approach is effective for the identification in breeding material of wheat genotypes with centric translocation 1R_s.1B_L.

Key words: PCR-detection, molecular markers, translocation 1R_s.1B_L, *Triticum aestivum* L., *Secale cereale* L.