«Сейфуллин оқулары – 18(2): « XXI ғасыр ғылымы – трансформация дәуірі» халықаралық ғылыми - практикалық конференция материалдары = Материалы международной научно-практической конференции «Сейфуллинские чтения – 18(2): «Наука XXI века – эпоха трансформации » - 2022.- Т.I, Ч.I. – С.131-135

МЕЖДУНАРОДНЫЙ ОПЫТ ИЗУЧЕНИЯ УЧЕНЫМИ КАЗАХСТАНА И ТАТАРСТАНА (РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ) МАРКЕРОВ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ К ВИРУСАМ КАРТОФЕЛЯ

Б. [1]Бейсембина, О.А. [2]Кузьминова, М.Ә. [1], Әжімахан, В.Т. [1] Хасанов, С.Г. [2]Вологин
Казахский агротехнический университет им. С.Сейфуллина , г. Нұр-Сұлтан
Татарский НИИ сельского хозяйства – обособленное структурное подразделение
ФИЦ «Казанский научный центр РАН», г. Казань, РФ [2]

В процессе эволюции между растениями и вредными организмами сложились определенные взаимоотношения, в результате которых происходит растительный организм погибает или приобретает способность противостоять паразиту [1]. Устойчивость растений к возбудителям болезней обусловлена комплексным действием различных факторов и находится под генетическим контролем, обусловленным наличием большого числа генов. Устойчивость развивается только в том случае, если комплементарные гены хозяина и паразита находятся в доминантном состоянии. Если же один из них или оба гена рецессивны, то растение восприимчиво, а паразит вирулентен (состояние совместимости). Эта концепция устойчивости растений к вирусам, предложенная Х. Флором, называется «ген-на-ген» [2]. С молекулярной точки зрения наиболее изученными типами устойчивости у растений являются *реакция сверхчувствительности* (СВЧ), связанная с наличием у растения-хозяина доминантных аллелей *N*-генов устойчивости, и *экстремальная устойчивость*, которая контролируется доминантными аллелями *R*-генов устойчивости [3, 4].

В связи с тем, что картофель является одним из видов вегетативно размножаемых растений, реинфекция семенного материала и ежегодное накопление вирусных болезней приводит к значительному снижению продуктивности данной сельскохозяйственной культуры. Вирусные болезни ограничивают жизнь сорта картофеля в производстве и ухудшают качество посадочного материала [5]. Таким образом, для успешного ведения картофелеводства существует острая необходимость в формировании генофонда сортов с высокой устойчивостью к вирусных патогенам. Для создания устойчивых сортов картофеля требуется использовать все существующие современные селекционные инструменты: начиная с подбора

родительских форм (доноров устойчивости), обладающих комплексом необходимых хозяйственно-ценных признаков, и заканчивая применением современных биотехнологических методов, таких как маркер-вспомогательная селекция. С помощью детекции молекулярных маркеров можно увеличить скорость поиска ценных генотипов, увеличивая выборку анализируемого материала, а также проводить параллельный скрининг на устойчивость к нескольким патогенам и отбирать формы с групповой устойчивостью [6].

Действие *R*-генов, обуславливающих устойчивость картофеля к инфицированию наиболее вредоносным Y-вирусом картофеля (YВК), считается более стабильным и обеспечивает передачу устойчивости против всех известных штаммов YВК, включая некротический штамм кольцевого некроза клубней [7]. Наличие в генотипе картофеля данного гена приводит к ограниченному некрозу на тканях растения или же полному отсутствию симптомов. Напротив, действие *N*-генов, обуславливающих устойчивость к YВК посредством СВЧ, характеризуется штаммоспецифичностью, а также в значительной степени зависит от условий окружающей среды и физиологического состояния растений картофеля [6, 8, 9]. У картофеля известны три *R*-гена, обеспечивающие устойчивость к инфицированию YВК: *Ry-adg*, *Ry-sto* и *Ry-chc* [5]. Также у картофеля известны и успешно картированы *N*-гены: *Ny-tbr*, *Ny-1* и некоторые другие [10, 11].

В настоящее время в генофонде картофеля известно два *R*-гена, доминантные аллели которых которые обеспечивают устойчивость к другому широко распространенному вирусному патогену – Х-вирусу картофеля (ХВК): гены *Rx1* и *Rx2.* Функционирование СВЧ при инфицировании картофеля ХВК контролируется генами *Nb* и *Nx* [12-14]. Гены *Rx1* и *Rx2* принадлежат к классу генов устойчивости CC / LZ-NBS-LRR и локализованы на хромосомах XII и V, соответственно. Ген *Nx* картирован на хромосоме IX, а ген *Nb* находится на хромосоме V [5].

Целью исследования служило детектирование молекулярно-генетических маркеров, сцепленных с генами устойчивости к YВК и ХВК в коллекции сортов картофеля казахстанской селекции.

Исследование проводили на базе НАО «КазАТУ им. С.Сейфуллина» (г. Нур-Султан, Республика Казахстан) и Татарского научно-исследовательского института сельского хозяйства – обособленного структурного подразделения Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр РАН» (г. Казань, Российская Федерация) в рамках проекта AP14870270 «Молекулярно-генетическое обоснование устойчивости отечественных и зарубежных сортов и гибридов картофеля к основным вирусным, нематодным заболеваниям и фитофторозу», источник финансирования - Комитет науки Министерства образования и науки Республики Казахстан.

Выделение ДНК проводили с помощью наборов «ДНК-сорб-С» (Интерлабсервис, Россия). Обнаружение молекулярных маркеров RYSC3 (ген *Ry-and*), GP122-406 (ген *Ry-fsto*), YES3-3A (ген *Ry-sto*), STM003 (ген *Ry-sto*), Ry186 (ген *Ry-chc*), PVY38-530 (ген *Ry-chc*), S1d11 (ген *Ny-1*), 1Rx (ген

Rx1), 5Rx1 (ген *Rx1*), 106Rx2 (ген *Rx2*), GM 339 (ген *Nb*) и GM 637 (ген *Nb*) осуществляли в соответствие с методикам, приведенным в научной литературе [13-22].

Результаты скрининга образцов картофеля казахстанской селекции на наличие молекулярно-генетических маркеров, сцепленных с генами устойчивости к YВК и ХВК, отражены в таблице.

Таблица – Детекция молекулярных маркеров, сцепленных с генами устойчивости к YВК и ХВК

Образец	ДНК-маркер/ген устойчивости											
	RYSC3	GP122-406	YES3-3A	STM003	Ry 186	PVY38-530	S1d11	5 Rx1	1Rx1	106 Rx2	GM 339	GM 637
	Ry-and	*Ry-fsto*	*Ry-sto*		*Ry-chc*		*Ny-1*	*Rx-1*		*Rx-2*	*Nb*	
Акжар	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	+	-
Валерий	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+
Вид-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	+	+
Дуняша	-	-	-	-	-	+	-	-	-	*	-	-
Костанайские новости	+	-	-	-	-	-	-	-	-	*	+	-
Курант-1	+	-	-	-	-	-	-	-	-	*	+	-
Тустеп	+	-	-	-	-	+	-	+	-	*	+	+
Удовицкий	-	-	-	-	+	+	-	-	-	*	-	+
Примечание: * - образец находится на изучении												

Молекулярный SCAR-маркер RYSC3, нацеленный на поиск доминантного аллеля гена *Ry-and*, был выявлен в генетическом материале четырех сортов: Валерий, Костанайские новости, Курант-1 и Тустеп. RAPD-маркер PVY38-530 был детектирован в геноме 4-х образцов: Валерий, Дуняша, Тустеп и Удовицкий. В генетическом материале сорта Удовицкий RAPD-маркер PVY38-530 находился в комплексе с ДНК-маркером Ry186, который направлен на детекцию доминантного аллеля гена *Ry-chc*. Комплексное присутствие ДНК-маркера RYSC3 и RAPD-маркера PVY38-530 обнаружено у сортов Валерий и Тустеп. Молекулярные маркеры GP122-406, YES3-3A и STM003, направленные на поиск генов *Ry-fsto* и *Ry-sto*, не были обнаружены у всех восьми исследованных образцов, что предположительно свидетельствует о том, что геном вида *S. stoloniferum* не был вовлечен в процесс создания этих сортов. В генетическом материале двух сортов картофеля – Акжар, Вид-2 не был детектирован ни один из диагностируемых молекулярных маркеров.

В результате проведенного изучения молекулярный маркер 5Rx1, нацеленный на поиск гена *Rx1,* обнаружен в сортах Валерий и Тустеп.

Маркер 1Rx1 не был детектирован ни в одном из образцов картофеля. ДНК-маркер 106 Rx2 (ген *Rx2*) в настоящее время выявлен только у сорта Валерий, остальные образцы в настоящее время исследуются. Маркер GM 339 (ген *Nb*) был детектирован в геноме 6 сортов: Акжар, Валерий, Вид-2, Костанайские новости, Курант-1 и Тустеп. Маркер GM 637 (ген *Nb*) был обнаружен в генетическом материале сортов Валерий, Вид-2, Тустеп и Удовицкий. Из исследованного набора сортов казахстанской селекци наиболее перспективным для дальнейшей работы является сорт Валерий, который предположительно обладает комплексной устойчивостью к YВК и ХВК.

Результаты проведенного скрининга сортов картофеля на наличие молекулярных маркеров, сцепленных с генами устойчивости к YВК и ХВК будут в дальнейшем использованы в селекционной работе по созданию вирусоустойчивых сортов картофеля, а также в фундаментальных исследованиях по изучению механизмов устойчивости картофеля к вирусам.

Список использованной литературы

1 Сиков В.А., Дьяков Ю.Т., Смирнов А.Н. и др. Иммунитет растений. – М.: Колосс, 2005. – 190 с.

2 Flor H.H. Genetics of pathogenicity in Melampsora lini // J. Agric. Res. – 1946. – Vol. 73. – P. 335-357.

3 Гавриленко Т.А., Рогозина Е.В., Антонова О.Ю. Создание устойчивых к вирусам растений картофеля на основе традиционных подходов и методов биотехнологии [Текст] / Идентифицированный генофонд растений и селекция: сб. ст. – СПб., 2005. – С. 644-662.

4 Cockerham G. Genetical studies on resistance to potato viruses X and Y [Text] / Heredity. – 1970. – Vol. 25. – P. 309-348.

5 Solomom-Blackburn R., Barker H. A review of host major-gene resistance to potato viruses X, Y, A and V in potato: genes, genetics and mapped locations [Text] / Heredity. – 2001. – Vol. 86. – P. 8-16.

6 Valkonen J. P. T. Natural genes and mechanisms for resistance to viruses in cultivated and wild potato species [Text] / Plant Breed. – 1994. – Vol. 12. – P. 1-16.

7 Chrzanowska M., Muchalski T. Potato cultivars possessing Ry_{sto} gene react to PVY with internal necroses after graft inoculation [Text] / Abstracts of the 14th triennial Meeting for the EAPR. – Sorrento, 1999. – P. 543-544.

8 Karasev A.V., Gray S.M. Continuous and emerging challenges of Potato virus Y in potato [Text] / Annu Rev Phytopathol. – 2013. – Vol. 51. – P. 571-586.

9 Le Romancer M., Kerlan C. Superficial ringspot necrosis of potato tubers, a recent disease caused by potato virus Y [Text] / Agronomie. – 1991. – Vol.11. – P. 889-900.

10 Celebi-Toprak F., Slack S.A., Jahn M.M. A new gene, Nytbr, for hypersensitivity to Potato Virus Y from Solanum tuberosum Maps to Chromosome IV [Text] / Theor. Appl. Gen. – 2002. – Vol. 104. – P. 669-674.

11 Szajko K., Chrzanowska M., Witek K. et al. The novel gene Ny-1 on potato chromosome IX confers hypersensitive resistance to Potato virus Y and is an alternative to Ry genes in potato breeding for PVY resistance [Text] / Theor. Appl. Genet. – 2008. – Vol. 116. – P. 297-303.

12 Marano M.R., Malcuit I., De Jong W., Baulcombe D.C. High-resolution genetic map of Nb, a gene that confers hypersensitive resistance to potato virus X in Solanum tuberosum. Received: 5 November 2001 [Text] / Accepted: 25 November 2001 / Published online: 19 June 2002 © Springer-Verlag 2002.

13 Nyalugwe, E. P., R. A. C. Biological properties of Potato virus X in potato [Text] / Wilson, C. R., Coutts, B. A., and Jones, // Effects of mixed infection with Potato virus S and resistance phenotypes in cultivars from three continents. Plant Dis. –2020. -Vol. 96. - P.43-54.

14Rahim Ahmadvand, István Wolf, Ahmad Mousapour Gorji, Zsolt Polgár, János Taller. Development of Molecular Tools for Distinguishing Between the Highly Similar Rx1 and Rx2 PVX Extreme Resistance Genes in Tetraploid Potato [Text] / Potato Research. - 2013. – Vol. 56. – P. 277–291.

15Hamalainen J.H., Watanabe K.N., Valkonen J.P.T. et al. Mapping and marker-assisted selection of a gene for extreme resistance to potato virus Y [Text] / Theor. Appl. Genet. – 1997. – Vol. 94. – P. 192-197.

16Клименко Н.С., Гавриленко Т.А., Костина Л.И., Мамодбокирова Ф.Т., Антонова О.Ю. Поиск источников устойчивости к Globodera Pallida и к PVX в коллекции отечественных сортов картофеля с использованием молекулярных маркеров [Text] / Биотехнология и селекция растений. – 2019. – Vol. 2 (1). - С. 42-48.

17Гавриленко Т.А., Клименко Н.С., Антонова О.Ю., Лебедева В.А., Евдокимова З.З., Гаджиев Н.М. Молекулярный скрининг сортов и гибридов картофеля северо-западной зоны Российской Федерации [Text] / Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2018. – Vol. 22(1). - С. 35-45.

18Szajko K., Strzelczyk-Zyta D., Marczewski W. Ny-1 and Ny-2 genes conferring hypersensitive response to Potato virus Y (PVY) in cultivated potatoes: mapping and marker-assisted selection validation for PVY resistance in potato breeding [Text] / Mol. Breed. – 2014. – Vol. 34. – P. 267-271.

19Heldák J., Bežo M., Štefúnová V., Galliková A. Selection of DNA markers for detection of extreme resistance to potato virus Y in tetraploid potato (Solanum tuberosum L.) F1 Progenies [Text] / Czech J Genet Plant Breed. – 2007. – Vol. 43. – P. 125-134.

20Song Y-S., Hepting L., Schweizer G. et al. Mapping of extreme resistance to PVY (Ry sto) on chromosome XII using anther-culture-derived primary dihaploid potato lines [Text] / Theor. Appl. Genet. – 2005. – Vol. 111. – P. 879-887.

21Hosaka K., Hosaka Y., Mori M. et al. Detection of a simplex RAPD marker linked to resistance to potato virus Y in a tetraploid potato [Text] / Am J Pot Res. – 2001. – Vol. 78. – P. 191-196.

22Song Y.-S., Schwarzfischer A. Development of STS markers for selection of extreme resistance (Rysto) to PVY and maternal pedigree analysis of extremely resistant cultivars [Text] / Am J Pot Res. – 2008. – Vol. 85. – P. 159-170.