

- the institutional framework for the management of animal genetic resources. FAO Animal Production and Health Guidelines. – № 6. – Rome, Italy: FAO of the UN, Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture, 2011. – P. 53.
6. ФАО, 2010. ВІЖ РАСХН, 2010. Состояние всемирных генетических ресурсов животных в сфере продовольствия и сельского хозяйства; пер. с англ. С.Н. Харитонова, Т.Т. Глазко, О.В. Кузнецовой [и др.]. – М.; Рим: ФАО, 2010. – 512 с.
 7. Гузев І.В. Методологія збереження біорізноманіття генетичних ресурсів тваринництва України: дис. доктора с.-г. наук: 06.02.01. – Чубинське, 2012. – 630 с.

GYZIEV I.V.

Institute of animals breeding and genetics NAAS

Ukraine, 08321, Kyiv region, Boryspil district, v. Chubinsky, Pogrebnjaka str., 1,

e-mail: guzev@cdmaua.com

THE PURPOSES, VALUES AND UNIT OF PRESERVATION OF THE BIODIVERSITY AND GENE POOL OBJECT IN ANIMAL INDUSTRIES

Aims. Definition of the purpose, values and units of preservation of a biodiversity, and also gene pool object in animal industries. **Methods.** On the basis of analysis SoW-AnGR, FAO, 2007b and modern base genetic knowledge we submit the general circuit of formation of an overall objective, the certain spectrum of values and preservation of their genetic basis – of the genofund (alleles pool) of agricultural animals. And as elementary unit of preservation acts, suggested by us, concept «gene pool object». **Results.** The purposes, values and units of preservation of a biodiversity are established, and also the concept is offered and definition «gene pool object» in animal industries is given. **Conclusions.** Combination of values selected for long-term preservation of set of populations, as well as specific value of each of them, can and should be based on the following categories (kinds or bases of values): economic, ecological (including landscape), historical, cultural, social, medical, scientific, and in the future – and on others, for the present the unknown to us. Basic unit of preservation of a biodiversity of animal industries is breed, and additional (auxiliary) – species (a sort or a subspecies), intrabreed (zonal) type (spawn), separate animals outstanding in the breeding attitude.

Key words: purposes, values and units of preservation, gene pool object.

ЗАЇКА Є.В.¹, СОЗІНОВ О.О.^{2,3}, КАРЕЛОВ А.В.², КОЗУБ Н.О.², ФІЛЕНКО О.Л.⁴, СОЗІНОВ І.О.²

¹ Національний Науковий Центр «Інститут землеробства НААН України»

Україна, 08162, Київська обл., Києво-Святошинський р-н, смт. Чабани, вул. Машинобудівників, 2б,

e-mail: za-ika-@mail.ru

² Інститут захисту рослин НААН

Україна, 03022, Київ, вул. Васильківська, 33, e-mail: sia1@i.com.ua

³ ДУ «Інститут харчової біотехнології і геноміки НАНУ»

Україна, 04123, Київ, вул. Осиповського, 2а,

⁴ Лабораторія провідних біотехнологій «Неоген»

Україна, 04112, Київ, вул. Олени Теліги, 4, e-mail: info@neogene.com.ua

ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНІВ ПОМІРНОЇ НЕРАСОСПЕЦІФІЧНОЇ СТІЙКОСТІ ДО ХВОРОБ *Sr2/Lr27* ТА *Lr34/Yr18/Pm38* У СОРТАХ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ ННЦ «ІНСТИТУТ ЗЕМЛЕРОБСТВА НААН»

При створенні сортів пшениці для Полісся і Північного Лісостепу основним напрямком селекційної роботи залишається підвищення стійкості до хвороб, оскільки вона може серйозно вплинути на реалізацію потенціалу продуктивності [1]. Останнім часом увагу дослідників все більше привертають гени, асоційовані з ра-сонеспеціфічною стійкістю, тому актуальним є

пошук донорів та джерел такої стійкості серед існуючих сортів м'якої пшеници.

Локус *Lr34* у відповідному алельному стані (далі – *Lr34+*) асоціюється з расонеспеціфічною стійкістю до бурої іржі (збудник – *Puccinia triticina* f. sp. *tritici*), жовтої іржі (збудник – *P. striiformis* f. sp. *Tritici*), де його позначали як *Yr18* [2], борошнистої роси (збудник – *Blumeria*

graminis (DC.) Speer), де він відомий як *Pm38* [3], толерантністю до вірусу жовтої карликовості ячменю [4] та (ймовірно) до стеблової іржі (збудник – *P.graminis* f. sp. *tritici*) [30]. Зовнішнім проявом *Lr34*-стійкості є некроз кінчиків листків, який у окремих випадках можна використовувати як фенотиповий маркер у польових умовах [4]. Вважають, що алель *Lr34+* зберігає свої властивості більше 100 років [5]. Також, згідно з попередніми дослідженнями, цей алель зустрічається і серед сортів пшениці української селекції [6].

Локус *Sr2* був інтрогресований із сорту Ярослав полби-двозернянки (*Triticum turgidum* L. ssp. *dicoccum*) у сорт м'якої пшениці Marquiz у 20 роках минулого століття. В результаті були виведені стійкі до хвороб сорти м'якої пшениці Hope та H44-24 [7]. Ген *Sr2* вже вісімдесят років зберігає здатність на помірному рівні протистояти усім відомим патотипам стеблової іржі пшениці, в тому числі небезпечної раси Ug99, чим привернув до себе увагу багатьох

Матеріали і методи

Для аналізу були взяті сорти м'якої пшениці, що виведені в ННЦ «Інститут землеробства НАН України». Були проаналізовані 9 ярих сортів і 28 озимих. Серед них: озимий сорт Ольжана (в цей час знаходиться на державному сортовипробуванні), а також нові перспективні сорти ІЗ15-12 (Іродона), ІЗ49-12 (Кесарія). Також взяті для дослідження сорти озимої пшениці Київська напівкарликова (створений в Інституті фізіології рослин і генетики НАН з сорту Поліська-70) і Київська-73. Насіння було одержане з колекції Інституту землеробства та з Національного центру генетичних ресурсів рослин України, м. Харків.

ДНК виділяли за допомогою наборів Diatom™ DNA Prep 100 (торговий представник в Україні – фірма NEOGENE®) за стандартним протоколом. Маркерами молекулярних мас слугували GeneRuler™ 50 bp DNA Ladder ready-to-use (фірма Fermentas). ПЛР проводили за допомогою наборів GenPak® PCR Core (торговий представник в Україні – фірма NEOGENE®) відповідно до рекомендацій. Результати ПЛР візуалізували шляхом електрофорезу у 2–2,5 % агарозному гелі із 1xTBE буфером та фарбуванням бромистим етидієм.

Для визначення алельного стану гена *Lr34/Yr18/Pm38* був використаний алель-специфічний маркер *caISBP1* (insertion site-based polymorphism marker) [10]. Цей кодомінантний

міжнародних програм [8]. Локус *Sr2* також асоціюється із геном ювенільної стійкості до бурої іржі *Lr27* (для достатнього рівня експресії якого, проте, необхідною є присутність у геномі відповідної алельної форми гену *Lr31*) і, ймовірно, зі стійкістю до борошнистої роси [9]. *Sr2*-стійкість пов'язана з проявом «несправжнього почорніння соломини» («pseudo-black chaff», або *Pbc*), що зумовлює темну пігментацію стеблових міжвузлів та колоскових лусок. Браун [9] описав також інший фенотиповий маркер, – хлорозу листків пшениці у фазі сходів за високої температури (+22°C).

Метою дослідження була ідентифікація алельного стану маркерів, які вказують на алельний стан генів *Lr34/Yr18/Pm38* та *Sr2/Lr27*, що обумовлюють помірну нерасоспецифічну стійкість до іржастих хвороб пшениці у дорослих рослин (adult plant resistance) в сортах української селекції, створених в умовах Поліської та Лісостепової зон України.

маркер знаходиться між локусом *Lr34*, що кодує так званий ABC-транспортер, та першим цитохромом *P450* в ділянці, яка впливає на експресію стійкості. У випадку «стійкого» алельного стану з одним із «форвард»-праймерів та єдиним «реверс»-праймером відпалиється фрагмент довжиною 509 п.н., у випадку «чутливого» алельного стану з іншим «форвард»-праймером та тим самим «реверс»-праймером – амплікони довжиною 391 п.н [10]. Для *Lr34/Yr18/Pm38* як сорти стандарти алельних станів використовували Chinese Spring («стійкий» алельний стан, *St+*) та Thatcher («чутливий» алельний стан, *St-*).

З метою ідентифікації алельного стану локусу *Sr2/Lr27* був використаний маркер *csSr2* [11]. «Стійкий» та «чутливий» алельні стани маркера, відрізняються по однонуклеотидній заміні, яка, у випадку «стійкого» стану є сайтом рестрикції для ендонуклеази *BspHI*. Якщо ампліфікація і наступне розділення продукту довжиною 337 п.н. з допомогою ендонуклеази в результаті дають три фрагменти (172, 53 і 112 п.н.) – це свідчить про «стійкий» алельний стан гена у 100 % випадків (так звана «*Hope*-алель»), якщо отримано два фрагменти (225 і 112 п.н.) – у 5 % випадків («*Marquiz*-алель»). Відсутність ампліконів свідчить про чутливість до стеблової іржі («нуль-алель»). В якості позитивного контролю для *Sr2/Lr27* використовували сорти Renown та Selkirk.

Результати та обговорення

Серед досліджуваних 37 сортів селекції Інституту землеробства не знайдено жодного з «*Hope*-алелем» (табл. 1). Проте у 5 (13,5 %) сортів знайдено «*Marquiz*-алель»: Щедра Полісся, Поліська-90, Поліська-95, Аналог, Епілог. Схожі результати демонструють попередні дослідження сортів м'якої пшениці української селекції СГІ [12]. Але не можна стверджувати, що у сор-

тів Інституту землеробства відсутня стійкість, асоційована з геном *Sr2*. Для всіх сортів, у яких був визначений «*Marquiz*-алель», є 5 % вірогідність наявності стійкості, пов'язаної з геном *Sr2*. Така стійкість, наприклад, зустрічається в сортах закордонної селекції Siete-Cerros, Derrimut, Kukri, Arthur71, Ellison, Kenya Plume, що несуть «*Marquiz*-алель».

Таблиця 1. Алельний стан локусів *Lr34/Yr18/Pm38* та *Sr2/Lr27* у сортах м'якої пшениці селекції ННЦ «Інститут землеробства НААН» («+» – «стійкий» алельний стан, «-» – «чутливий» алельний стан, «null» – «нуль-алель» генного локусу *Sr2*, «M» – «*Marquiz*-алель» генного локусу *Sr2*

Сорт	Рік рай-онування	<i>Lr34/Yr18/Pm38</i>	<i>Sr2/Lr27</i>	Сорт	Рік рай-онування	<i>Lr34/Yr18/Pm38</i>	<i>Sr2/Lr27</i>
Озимі				Озимі			
Поліська-71	1971	+/-	null	Бенефіс	2008	+	null
Поліська-70	1974	+	null	Епілог	2009	-	M
Київська-73	1974	+	null	Краєвид	2012	-	null
Колективна-77	1974	-	null	Ольжана		-	null
Київський н.-к.	1977	+	null	Журавка		+	null
Поліська безоста	1981	+	null	Мірютінка		+/-	null
Поліська-80	1982	+	null	Поліська-107		+/-	null
Щедра Полісся	1986	-	M	I315-12		+	null
Поліська-87	1990	+/-	null	I349-12		+/-	null
Поліська-92	1992	+/-	null	Ярі			
Поліська-90	1994	-	M	Рання-73	1978		null
Поліська-1259	1995	-	null	Дніпрянка	1982		null
Поліська-29	1996	+/-	null	Рання-93	1996		null
Поліська-95	1996	+/-	M	Скороспілка-95	2000		null
Копилівчанка	2003	-	null	Скороспілка-98	2001		null
Столична	2005	+	null	Скороспілка-99	2003		null
Гном	2007	-	null	Вітка	2003		null
Артеміда	2008	+	null	Недра	2007		null
Аналог	2008	+	M	Черемшина	2012		null

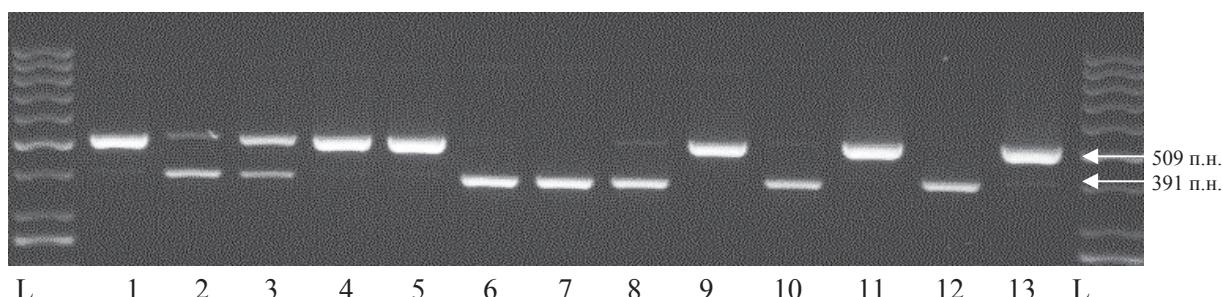


Рис. 1. Електрофорограма продуктів ПЛР, отриманих із зразками ДНК сортів озимої м'якої пшениці Інституту землеробства та праймерами, що фланкують маркер caISBP1 (генного локусу *Lr34*): 1 – Поліська-80; 2 – Поліська-87; 3 – Поліська-107; 4 – Журавка; 5 – Столична; 6 – Епілог; 7 – Гном; 8 – Краєвид; 9 – Артеміда; 10 – Копилівчанка; 11 – Аналог; 12 – Thatcher (St-); 13 – Chinese Spring (St+); L – маркер молекулярних мас (50 bp DNA Ladder)

Серед 28 зразків озимої пшениці селекції Інституту землеробства 11 показали «стійкий» алельний стан маркера caISBP1, а саме: Столична, Артеміда, Аналог, Бенефіс, Поліська-70, Поліська безоста, Київська-73, Київська напівкарликова, Поліська-80, Журавка, I315-12. У дев'яти сортах алельний стан маркера відповідав «чутливому» алельному стану локусу Lr34: Поліська-90, Колективна-77, Щедра Полісся, Епілого, Гном, Краєвид, Копилівчанка, Ольжана, Поліська-1259. Вісім зразків показали поліморфізм за даним маркером: Поліська-95, Поліська-71, Поліська-87, Поліська-107, Поліська-29, Поліська-92, Мірютінка, I349-12. Стійкість, обумовлена Lr34, однаково поширина як в сортах, що створені до 1990 року, так і в сортах періоду 1992-2012.

Присутність стійкості, пов'язаної із локу-

сом Lr34 в сортах місцевої селекції свідчить про його широке адаптивне значення, яке не втратило актуальності і до сьогодні. З огляду на характер експресії стійкості за Lr34 типом, ймовірно, що у сортах, які мають алель Lr34+, повинні експресуватись й інші гени, пов'язані зі стійкістю до іржастих грибів. Це, а також специфіка селекційного процесу в Інституті землеробства (а саме, використання помірних інфекційних фонів), могло б пояснити відбір генетичного матеріалу з алелем Lr34+ в процесі селекції. Крім того, отримані дані підтверджують той факт, що у родоводі сортів, які несли алель Lr34+ маркера caISBP1, присутній сорт Безоста 1, котрий вважають джерелом Lr34-стійкості як для українських, так і світових сортів пшениці [13].

Висновки

З усіх сортів м'якої пшениці, створених в ННЦ «Інститут землеробства НААН» для вирощування в зоні Полісся та Лісостепу, жоден не має «*Hope*-алеля». Зважаючи на присутність у родоводах сортів з «*Hope*-алелем», можна припустити, що деякі сорти (13,5 %) Інституту землеробства мають стійкість, асоційовану із геном *Sr2*, оскільки мають «*Marquiz*-алель», що зумовлює стійкість у 5 % випадків. Алель Lr34+

присутній у 11 (39 %) досліджуваних сортів озимої пшеници; при чому однаково поширений як в сортах, що створені до 1990 року, так і в сортах 1992–2012 рр. Це вказує на його важливе адаптивне значення. Сорти, в яких ідентифіковано стійкість до хвороб на основі гена Lr34, можна застосувати до селекції або інших досліджень з використанням молекулярно-генетичних маркерів.

Література

1. Котко І.К. Розвиток наукових досліджень з питань селекції озимої пшениці на Поліссі // Генетика і селекція в Україні на межі тисячоліть. – К: Логос, 2001. – Т.2. – С. 433–436.
2. Singh R.P. Genetic Association of Leaf Rust Resistance Gene Lr34 with Adult Plant Resistance to Stripe Rust Resistance in Bread Wheat // Phytopathology. – 1992. – V. 82, No. 8. – P. 835–838.
3. Spielmeyer W., McIntosh R.A., Kolmer J., Lagudah E.S. Powdery mildew resistance and Lr34/Yr18 genes for durable resistance to leaf and stripe rust co segregate at a locus on the short arm of chromosome 7D of wheat // Theor. Appl. Genet. – 2005. – V.111. – P. 731–735.
4. Shah S.J.A., Hussain S., Ali I., Ibrahim M., Ahmad M., Farhatullah Using leaf tip necrosis as a phenotypic marker to predict the presence of durable rust resistance gene pair Lr34/Yr18 in wheat // J. Gen. Plant Pathol. – 2011. – V.77 – P. 174–177.
5. Krattinger S. G. et all A Putative ABC Transporter Confers Durable Resistance to Multiple Fungal Pathogens in Wheat // Science 323, P. 1360 – 1363, – 2009. – supporting online material: www.sciencemag.org/cgi/content/full/1166453/DC1.
6. Dakouri A., McCallum B.D., Walichnowski A.Z., Cloutier S. Fine-mapping of the leaf rust Lr34 locus in *Triticum aestivum* L. and characterization of large germplasm collections support the ABC transporter as essential for gene function // Theor Appl Genet. – 2010. – V. 121. – P. 373–384.
7. McFadden E. S. A successful transfer of emmer characters to vulgare wheat // Agron. J. – 1930. – V.22. – P. 1020–1034.
8. L.-X. Yu, Lorenz A., Rutkoski J., Singh R.P., Bhavani S., Huerta-Espino J., Sorrells M.E. Association mapping and gene–gene interaction for stem rust resistance in CIMMYT spring wheat germplasm // Theor. Appl. Genet. – 2011. – V. 123. – P. 1257–1268.
9. Brown G.N. The inheritance and expression of leaf chlorosis associated with gene Sr2 for adult plant resistance to wheat stem rust // Euphytica, 1997. – V. 95. – P. 67–71.
10. Dakouri A., McCallum B.D., Walichnowski A.Z., Cloutier S. Fine-mapping of the leaf rust Lr34 locus in *Triticum aestivum* L. and characterization of large germplasm collections support the ABC transporter as essential for gene function // Theor Appl Genet. – 2010. – V. 121. – P. 373–384.

11. McNeil M.D., Kota R., Paux E., Dunn D., McLean R., Feuillet C., Li D., Kong X., Lagudah E., Zhang J.C., Jia J.Z., Spielmeyer W., Bellgard M., Apples R. BAC-derived markers for assaying the stem rust resistance gene, *Sr2*, in wheat breeding programs // Mol. Breeding, 2008. – V. 22. – P. 15–24.
12. Карелов А.В., Пирко Я.В., Блюм Я.Б., Козуб Н.О., Созінов И.О., Созінов О.О., Литвиненко М.А. Поліморфізм молекулярно-генетичного маркеру *csSr2* серед сортів м'якої пшениці селекції СГІ // Міжн. наук. конф. «Селекція та генетика сільськогосподарських рослин: традиції та перспективи» (до 100-річчя Селекційно-генетичного інституту – Національного центру насіннєзвавства та сортовивчення), Одеса. – 2012. – С. 154–155.
13. Карелов А.В., Пирко Я.В., Козуб Н.А., Созинов И.А., Пирко. Н.Н., Блюм Я.Б., Литвиненко Н.А., Лыфенко С.Ф., Колючий В.Т., Созинов А.А. Идентификация аллельного состояния гена устойчивости к бурой ржавчине *Lr34* у сортов озимой мягкой пшеницы украинской селекции // Цитология и генетика. – 2011. – Т. 45, №5. – С. 3–10.

ZAIKA I.V.¹, SOZINOV A.A.^{2,3}, KARELOV A.V.², KOZUB N.A.², FILENKO A.L.⁴, SOZINOV I.A.²

¹ National Science Center «Institute of Agriculture NAAS»

Ukraine, 08162, Kiev region, Kievo-Sviatoshinskij district, Tchabany, Mashinobudivnikiv str., 2b, e-mail: zaika-@mail.ru

² Institute of plant protection NAAS

Ukraine, 03022, Kiev, Vaselkivska str., 33, e-mail: sia1@i.com.ua

³ Institute of food biotechnology and genomics

Ukraine, 04123, Kiev, Osipovskogo, 2a

⁴ Laboratory of guiding biotechnology «Neogene»

Ukraine, 04112, Kiev, Oleni Teligi, 4, e-mail: info@neogene.com.ua

POLYMORPHISM OF THE MODERATE NON-RACE-SPECIFIC DISEASE RESISTANCE GENE *Sr2/Lr27* AND *Lr34/Yr18/Pm38* IN BREAD WHEAT CULTIVARS OF NSC «INSTITUTE OF AGRICULTURE NAAS» BREEDING

Aims. The object of our investigation is allelic state identification of *Sr2/Lr27* and *Lr34/Yr18/Pm38* gene in bread wheat cultivars of Polissia. **Methods.** Allelic state of the *Lr34* gene was identified with the molecular-genetic marker caISBP1 use and marker for *Sr2/Lr27* locus was *csSr2*. **Results.** In five cultivars (13,5 % of the total number) was detected the «Marquiz-allele» and rest had the «null allele» of *Sr2* locus. The «resistant» allelic state of *Lr34* gene (*Lr34+*) was identified in 11 cultivars (39 %). The «susceptible» allelic state of *Lr34* was identified in 9 wheat cultivars (32 %) and 8 (29 %) cultivars showed polymorphism at the *Lr34* locus. **Conclusions.** It is necessary to involve in wheat breeding process the *Lr34* and *Sr2* gene, because it is valuable source of disease resistance.

Key words: stem rust, Ug99, bread wheat, resistance, *Sr2*, *Lr34*.

ЗЕМЦОВА Л.В.¹, АМОСОВА А.В.¹, САМАТАДЗЕ Т.Е.¹, ГРУШЕЦКАЯ З.Е.², ВОЛОВИК В.Т.³, ЗЕЛЕНИН А.В.¹, ЛЕМЕШ В.А.², МУРАВЕНКО О.В.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН

Россия, 119991, Москва, ул. Вавилова, 3.; e-mail: olgmur1@yandex.ru

² Государственное научное учреждение Институт генетики и цитологии НАН Беларусь

Беларусь, 220072, Минск, ул. Академическая, 27, e-mail: v.lemesh@jgc.bas-net.by

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Всероссийский научно-исследовательский институт кормов им. В.Р. Вильямса РАСХН

Россия, 141005, Московская область, г. Лобня, Научный городок, e-mail: vik_volovik@mail.ru

ИССЛЕДОВАНИЕ ХРОМОСОМНЫХ МАРКЕРОВ СОРТОВ РАПСА РОССИЙСКОЙ И БЕЛОРУССКОЙ СЕЛЕКЦИИ

Рапс масличный (*Brassica napus oleifera* D.C.) является представителем семейства капустных (*Brassicaceae*). Различают его яровую

(*B.napus oleifera annua* Metzg.) и озимую (*B.napus oleifera biennis* Metzg.) формы. Рапс (2n=38, AACC) является природным аллополип-