

SCAR маркеры гена *RB/Rpi-blb1* устойчивости к фитофторозу картофеля

О. А. Фадина¹, Т. В. Белянцева¹, Э. Е. Хавкин¹, А. А. Панкин¹, Е. В. Рогозина², М. А. Кузнецова³, Р. В. Джонс⁴, К. Л. Дил⁴

¹Институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия; e-mail: fadinaokcaha@gmail.com

²Институт растениеводства им. Н. И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия

³Институт фитопатологии, Большие Вяземы, Московская обл., Россия

⁴USDA-ARS BARC, Beltsville, MD, USA

Ген *RB/Rpi-blb1* с широким спектром устойчивости к фитофторозу, исходно выделенный из *Solanum bulbocastanum*, успешно используется в селекции на долговременную устойчивость к фитофторозу. Мы использовали четыре SCAR маркера: RB-226 (Colton et al., 2006) и Blb1-820 (Wang et al., 2008), представляющих LRR участок *Rpi-blb1*, и RB-629 (Beketova et al., 2007) и RB-1223 (Pankin et al., 2010) представляющих CC участок этого гена (Рис. 1). Используя клonalную коллекцию дикорастущих *Solanum*, мы сопоставили частоты встречаемости RB-629, RB-226 и Blb1-820 с показателями устойчивости к фитофторозу для отдельных клонов.

Маркеры RB-226 и Blb1-820 были найдены только в геноме *B. S. bulbocastanum* и *S. stoloniferum*. Эти два маркера были значимо сопряжены и достаточно хорошо предсказывали устойчивость к фитофторозу. (Таблица).

Напротив, RB-1223 и его фрагмент RB-629 были широко распространены среди видов *Solanum* в секции *Petota* и были плохими предикторами устойчивости к фитофторозу (Рис. 2, Таблица).

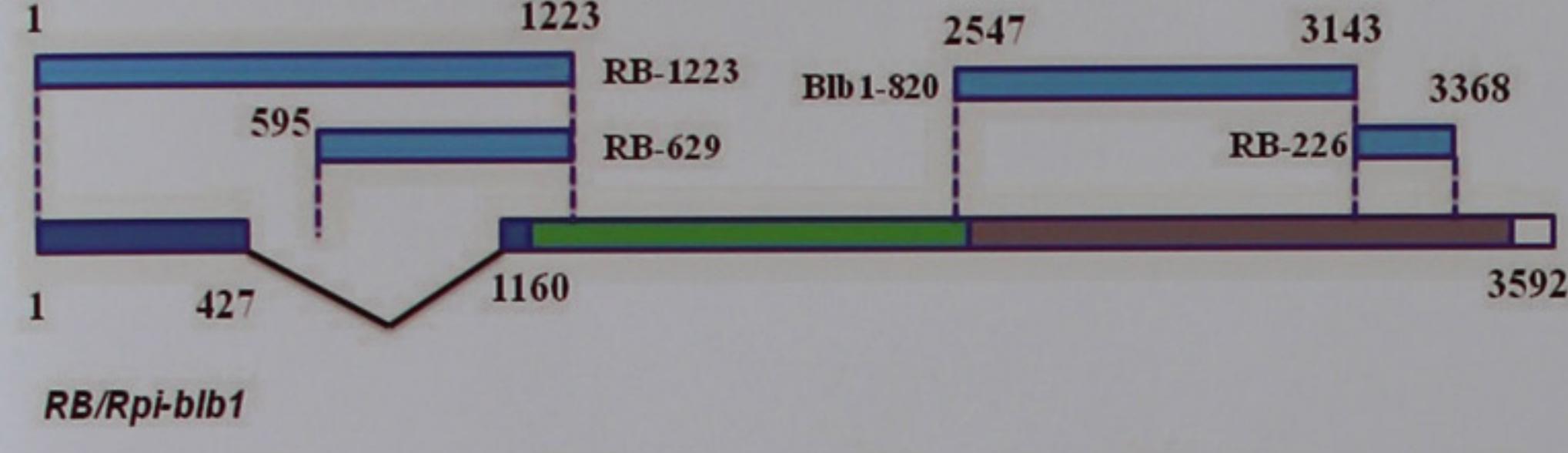


Рис. 1. Маркеры функционального гена *RB/Rpi-blb1* и его структурных гомологов.

Три маркера гена *RB/Rpi-blb1* у видов *Solanum*

Геном*	Функциональный ген <i>RB</i> **	Генотипы, образцы, клоны	RB-629	RB-226	Blb1-820	Устойчивость к фитофторозу, баллы ***
B	<i>Rpi-blb1</i> , <i>Rpi-bt1</i>	<i>S. bulbocastanum</i> VIR24866, CD-76-1	1	1	1	9
B	same	<i>S. bulbocastanum</i> PI255516, CD-75-1	1	1	1	9
B	same	<i>S. bulbocastanum</i> VIR24866, CD-76-3	0	0	0	9
B	same	<i>S. bulbocastanum</i> VIR21266, S-137	1	1	1	9
B	same	<i>S. bulbocastanum</i> VIR23181, 511-2	0	0	0	1
B	same	<i>S. bulbocastanum</i> VIR19981, 431	0	0	0	9
B	same	<i>S. bulbocastanum</i> PI24866, CD-76-5	1	1	1	9
B	same	<i>S. bulbocastanum</i> VIR24866, CD-76-3	0	0	0	9
B	same	<i>S. bulbocastanum</i> VIR23181, 511-1	0	0	0	1
B	same	<i>S. bulbocastanum</i> VIR21274, 509-1	0	0	0	9
B	same	<i>S. bulbocastanum</i> VIR21274, 509-3	0	0	0	7
B	same	<i>S. bulbocastanum</i> VIR21266, 432-1	1	1	0	7
A1B	<i>Rpi-blb1</i>	<i>S. stoloniferum</i> PI275248, CD-360-5	1	1	1	9
A1B	same	<i>S. stoloniferum</i> PI255525, CD-356-2	1	0	0	2
A1B	same	<i>S. stoloniferum</i> VIR23652, D-481	1	0	0	9
A1B	same	<i>S. stoloniferum</i> PI365401, CD-362-1	1	1	1	8
A1B	same	<i>S. stoloniferum</i> VIR24263, D-99	1	0	0	3
A1B	same	<i>S. stoloniferum</i> PI255534, D-482	1	1	1	9
B	-	<i>S. cardiophyllum</i> VIR21301, PI279272, 403	0	0	0	8
B	-	<i>S. cardiophyllum</i> ehr, VIR23277, PI251725, S-123	0	0	0	4
B	-	<i>S. cardiophyllum</i> VIR18225, PI274213, S-122	0	0	0	5
B	-	<i>S. cardiophyllum</i> PI347759, D-609	0	0	0	5
B	-	<i>S. cardiophyllum</i> PI24373, PI275213, 425	0	0	0	8
B	-	<i>S. ehrenbergii</i> VIR24373, PI275213, D-629	0	0	0	2
B	-	<i>S. ehrenbergii</i> PI275216, D-616	1	0	0	4
B	-	<i>S. ehrenbergii</i> PI255520, D-625	0	0	0	4
B	-	<i>S. ehrenbergii</i> PI278216, D-610	0	0	0	4
A1	<i>RBver</i>	<i>S. verrucosum</i> PI275260, CD-410	0	0	0	7
A1	same	<i>S. verrucosum</i> PI161173, CD-407-1	0	0	0	8
A1	same	<i>S. verrucosum</i> VIR24313, PI365404, CD-401-1	0	0	0	5
A3	-	<i>S. microdontum</i> VIR5399, D-262-09	1	0	1	9
A3	-	<i>S. microdontum</i> VIR12658, D-264-09	0	0	0	9
A3	-	<i>S. berthaultii</i> PI473331, CD-38-2	0	0	0	9
A1?D?	-	<i>S. demissum</i> VIR18487, Och14156, CD-130-2	1	0	0	9
A1?D?	-	<i>S. demissum</i> PI161167, CD-142-2	1	0	0	6
A1?D?	-	<i>S. demissum</i> VIR15174, S-98	0	0	0	4
A1?D?	-	<i>S. hougasii</i> VIR24389, CD-188-2	1	0	0	7
B?	-	<i>S. jamesii</i> PI275265, CD-210-1	0	0	0	7
B?	-	<i>S. jamesii</i> PI275265, CD-210-2	1	0	0	6
B?	-	<i>S. stenophyllum</i> PI24255, D-574	1	0	0	3
B?	-	<i>S. stenophyllum</i> PI255530, D-564	1	0	0	2
Api/B?	-	<i>S. pinnatifectum</i> VIR24239, D-564	0	0	0	9
Api/B?	-	<i>S. pinnatifectum</i> VIR21955, D-560	1	0	0	5

*На основе цитогенетических и молекулярных маркеров **(+)

** Искусственно зараженные отдельные листья (Институт фитопатологии).

Два высокостойчивых клона *S. bulbocastanum* и *S. stoloniferum* лишены маркеров RB-226 и Blb1-820. Их устойчивость может определяться присутствием других R генов, идентифицированных у этих двух видов: *Rpi-blb2*, *Rpi-blb3* и *R3a* (Sokolova et al., 2011; Vleeshouwers et al., 2011). Высокая устойчивость нескольких других клонов, очевидно, лишенных *Rpi-blb1*, предполагает, что эти виды содержат другие R гены indicates (см. постер Соколовой и др.).

RB-226 и Blb1-820 значимо сопряжены и достаточно хорошо предсказывают устойчивость к фитофторозу (таблица). Высокая устойчивость к фитофторозу была обычно связана с одновременным присутствием двух этих маркеров. Редкие случаи высокой устойчивости генотипов, несущих только один из двух маркеров, возможно, связаны с аллельным полиморфизмом, затрагивающим участок гена, узнаваемый праймером.

Два других маркера, RB-629 и RB-1223, найдены в геномах A и B у более 100 генотипов *Solanum* (Таблица, рис. 2). Эти маркеры неспецифичны по отношению к *Rpi-blb1* и не предсказывают устойчивость к фитофторозу.

Клональную коллекцию дикорастущих *Solanum* (секция *Petota*) использовали для прямого сопоставления устойчивости к фитофторозу в тесте с отделенными листьями с распределением SCAR маркеров гена *RB/Rpi-blb1*, исходно идентифицированного у *S. bulbocastanum* (Таблица).

Маркеры RB-226 и Blb1-820 специфичны для *Rpi-blb1*. Эти маркеры обнаруживаются только у These *S. bulbocastanum* и *S. stoloniferum* (который, по видимому, получил свой геном B от *S. bulbocastanum*) и отсутствуют у таких видов *Solanum* с геномом B, как *S. cardiophyllum*, *S. ehrenbergii* и, вероятно, *S. pinnatifectum*. Эти результаты подтверждают данные Wang et al. (2008) о том, что маркер Blb1-820 обнаруживается только у *S. bulbocastanum* и *S. stoloniferum*. Присутствие функционального гена *RB/Rpi-blb1* у *S. stoloniferum* было показано независимыми методами (Lokossou et al., 2010; Sokolova et al., 2011; Vleeshouwers et al., 2011). Маркеры RB-226 и Blb1-820 не распознают ортологи *Rpi-blb1*: *Rpi-bt1* (Oozumi et al.,) и *RBver* (Liu and Halterman, 2006), - и мы поэтому не находим их у *S. verrucosum*.

Два других маркера, RB-629 и RB-1223, присутствуют в геномах A и B, исследованных более 100 генотипов *Solanum* (Таблица, Рис. 2). Эти маркеры неспецифичны для *Rpi-blb1* и не предсказывают устойчивость к фитофторозу.



S. bulbocastanum
(фото А. Панкина)

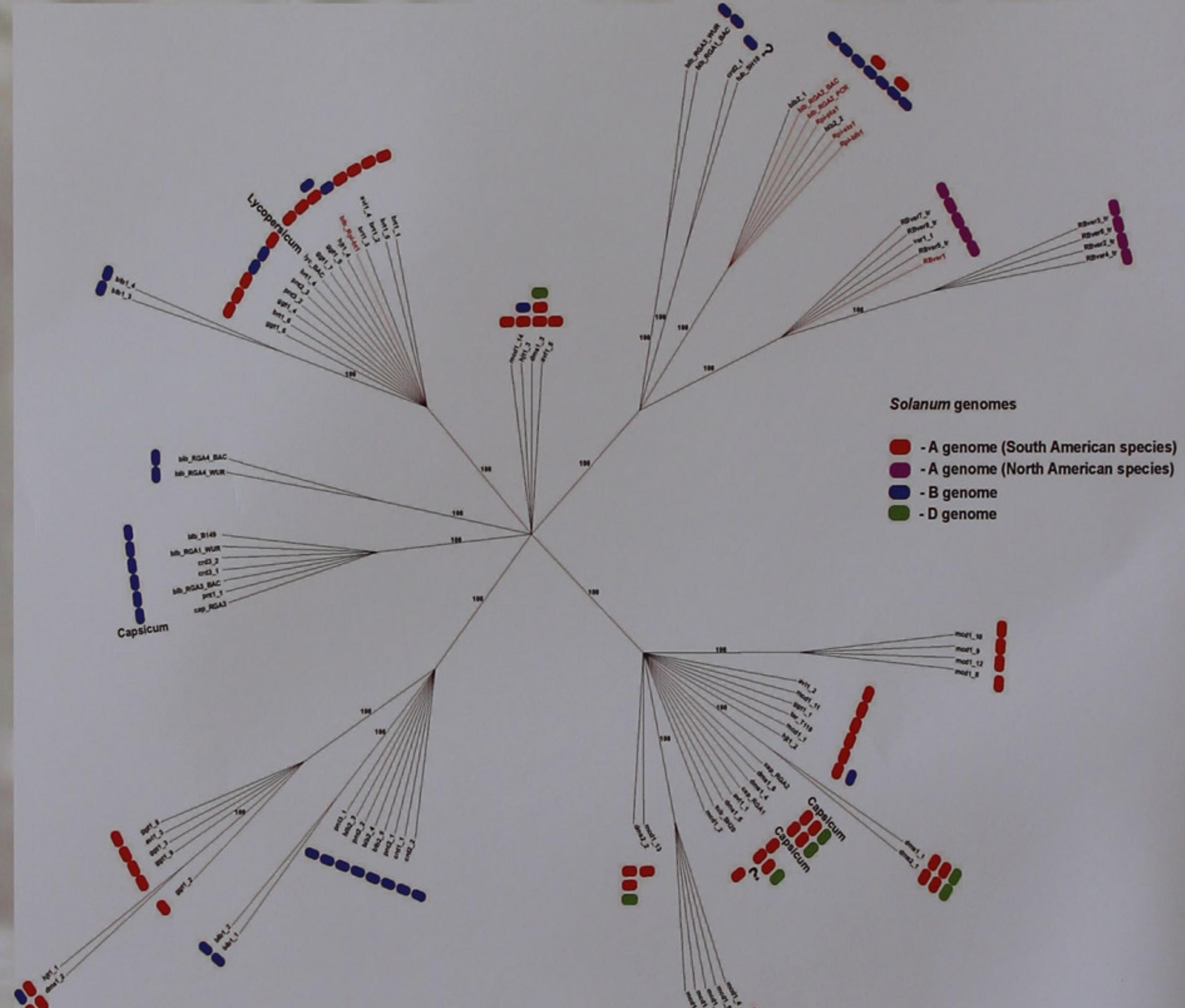


Рис. 2. Филогенетическое дерево (алгоритм Maximum likelihood) кодирующего участка семейства генов *RB*, распознаваемого SCAR маркером RB-1223 у видов *Solanum* и *Capsicum*:
avl - *S. avilesii*, blb - *S. bulbocastanum*, ber - *S. berthaultii*, can - *C. annuum*, cba - *C. baccatum*, cch - *C. chinense*, cph - *S. cardiophyllum*, dms - *S. demissum*, hjt - *S. hirtingii*, lyc - *S. lycopersicum*, med - *S. microdontum*, phu - *S. phureja*, pld - *S. polyadenium*, pnt - *S. pinnatifectum*, sto - *S. stoloniferum*, tar - *S. tarjense*, tbr - *S. tuberosum*, ver - *S. verrucosum*

Красные ветви и обозначения последовательностей соответствуют генам, для которых установлена устойчивость к фитофторозу.

Для расчета бутстрапа использовали алгоритм Stamatakis et al., 2008.

Литература

- Colton L.M. et al., 2006. Marker-assisted selection for the broad-spectrum potato late blight resistance conferred by gene *RB* derived from a wild potato species. *Crop Sci.*, 46:589-594.
- Liu Z., Halterman D., 2006. Identification and characterization of *RB* orthologous genes from the late blight resistant wild potato species *Solanum verrucosum*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 69: 230-239.
- Lokossou A.A. et al., 2010. Diversity, distribution, and evolution of *Solanum bulbocastanum* late blight resistance genes. *MPMI*, 23: 1206-1216.
- Oozumi T. et al., 2009. Gene *Rpi-bt1* from *Solanum bulbocastanum* confers resistance to late blight in transgenic potatoes. *Am. J. Potato Res.*, 86: 1-10.
- Pankin A.A. et al., 2010. Searching among wild *Solanum* species for homologues of *RB/Rpi-blb1/Rpi-bt1* gene conferring durable late blight resistance. In: Schepers HTAM (ed.) PPO-Special Report no. 14, 277 - 284.
- Sokolova, E. et al., 2011. SCAR markers of the R-genes and germplasm of wild *Solanum* species for breeding late blight-resistant potato cultivars. *Plant Gen. Res.*, 9: 309-312.
- Stamatakis A. et al., 2008. A rapid bootstrap algorithm for the RAxML web servers. *Syst. Biol.*, 57: 758-771.
- Vleeshouwers V.G.A.A. et al., 2011. Understanding and exploiting late blight resistance in the age of effectors. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 49: 507-531.
- Wang M. et al., 2008. Allele mining in *Solanum*: Conserved homologues of *Rpi-blb1* are identified in *Solanum stoloniferum*. *Theor. Appl. Genet.*, 116: 933-943.