

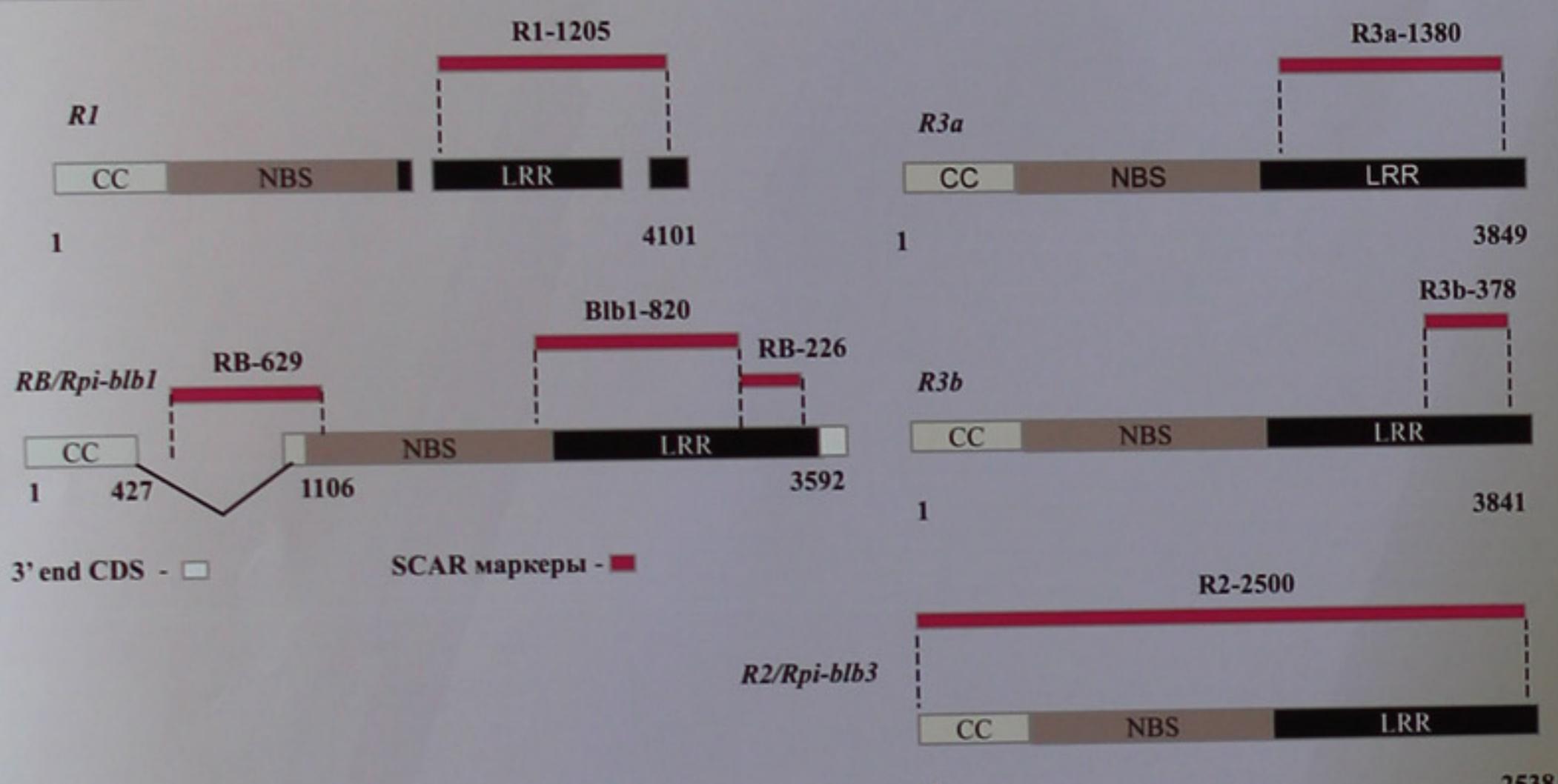
СТРУКТУРНЫЕ ГОМОЛОГИ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ К ФИТОФТОРОЗУ У ДИКОРАСТУЩИХ ВИДОВ *SOLANUM*

Е.А. Соколова¹, О.А. Фадина¹, Э.Е. Хавкин¹, Е.В. Рогозина², М.А. Кузнецова³, Р.В. Джонс⁴, К.Л. Дил⁴

¹ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии Россельхозакадемии, Москва; эл. адрес katesokol83@mail. ²ВНИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова Россельхозакадемии, С. Петербург;
³ВНИИ фитопатологии Россельхозакадемии, Большие Вяземы, Моск. обл.; ⁴USDA-ARS BARC, Beltsville, MD, USA

Новые расы *Phytophthora infestans* быстро преодолевают устойчивость к фитофторозу, основанную на генетическом материале *Solanum demissum*, и селекционеры ищут новые источники долговременной устойчивости в генетических коллекциях дикорастущих *Solanum*. Мы использовали SCAR маркеры пяти расоспецифичных генов, исходно охарактеризованных у *S. demissum* и *S. bulbocastanum*: *R1*, *R2/Rpi-blb3*, *R3a*, *R3b* и *RB/Rpi-blb1* – для скрининга образцов *Solanum*, представляющих шесть серий секции Petota и клонов, полученных из этих образцов. Полученные данные важны для поиска новых *R* генов устойчивости к фитофторозу и изучении эволюции CC-NBS-LRR генов.

Маркеры и их длина, п.н.	Ген-прототип	Хромосома	Положение в прототипе, п.н.	Ссылка
RB-629	AY336128	8	595-1223	[1]
RB-226	AY336128	8	3143-3368	[2]
Blb1-820	AY336128	8	2547-3143	[3]
R1-1205	AF447489	5	5126-6331	[1]
R2-2500	FJ536325	4	1-2538	[4]
R3a-1380	AY849382	11	1677-3056	[1]
R3b-378	JF900492	11	94818-95195	[4]



SCAR маркеры *R* генов устойчивости к фитофторозу. Положение праймеров (п.н.) показано для генов-прототипов *R1*, *R2/Rpi-blb3*, *R3a*, *R3b* и *RB/Rpi-blb1*.

SCAR маркеры CC-NBS-LRR генов устойчивости использовали для анализа 218 образцов, представляющих 14 видов *Solanum*. Распределение структурных гомологов отдельных *R* генов сильно различается в секции Petota. Гены *R1*, *R2*, *R3a* and *R3b*, исходно охарактеризованные у *S. demissum*, были найдены у многих таксономически отдаленных видов. Структурные гомологи гена *RB/Rpi-blb1*, исходно найденные в геноме В *S. bulbocastanum* и *S. stoloniferum* (см. обзор [5]), были найдены у многих видов с геномом А, однако только *RBver* из *S. verrucosum* участвует в устойчивости к фитофторозу [6]. Эти данные позволяют предполагать о том, что многие *R*-гены возникли до расхождения геномов А и В и последующего выделения видов *Solanum*. Присутствие маркеров RB-226 и RB-820 всегда указывает на присутствие функционального гена *Rpi-blb1*, напротив, маркер RB-629 представляет структурные гомологи, не связанные с устойчивостью к фитофторозу (подробнее см. постер Фадиной и др.).

Серии и виды [20]	Общее число исследованных форм	Частота встречаемости маркеров R генов						
		R1-1205	R2-2500	R3a-1380	R3b-378	RB-629	RB-226	Blb1-820
<i>Bulbocastana</i> (<i>S. bulbocastanum</i>)	28	0						0
<i>Demissa</i>	<i>S. demissum</i>	38		nd				0
	<i>S. hougasii</i>	7						0
<i>Longipedicellata</i>	<i>S. hjertingii</i>	6	0		0			nd
	<i>S. polytrichon</i>	12		0				nd
	<i>S. stoloniferum</i>	51		nd				nd
<i>Pinnatisecta/ Cardiophylla</i>	<i>S. cardiophyllum</i>	7	0	nd				0
	<i>S. ehrenbergii</i>	17	0					0
	<i>S. jamesii</i>	13	0	0	0			0
	<i>S. pinnatisectum</i>	10	0		0			0
<i>Polyadenia</i>	<i>S. polyadenium</i>	8	0	nd		0		0
<i>Tuberosa</i>	<i>S. verrucosum</i>	12	0	0	0	0		0
	<i>S. berthaultii</i>	7		nd	0	0		nd
	<i>S. microdontum</i>	6		0		0		0

■ пример встречается часто

- маркер встречается редко

Литература

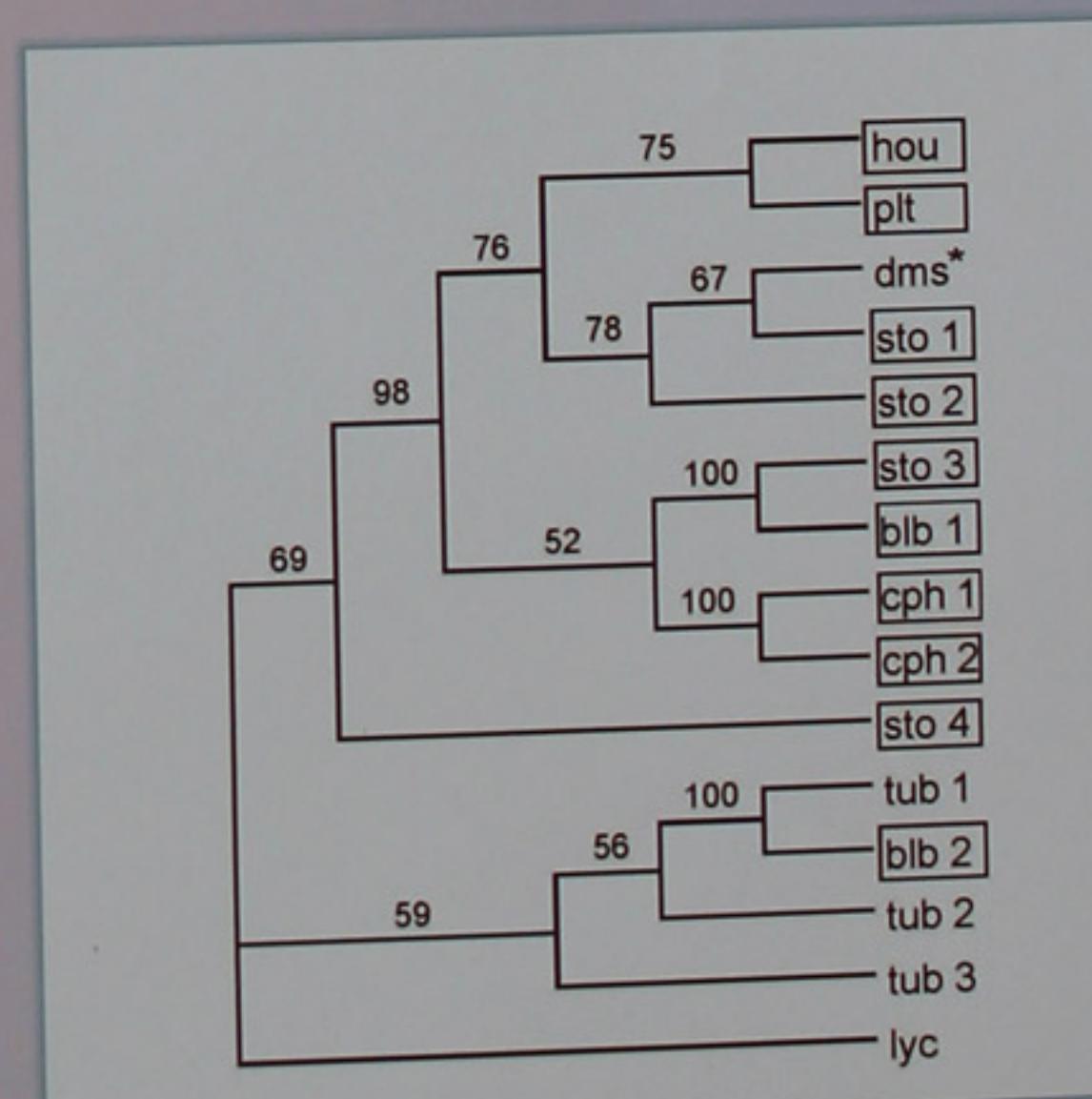
1. Sokolova E. et al., 2011. SCAR markers of the *R*-genes and germplasm of wild *Solanum* species for breeding late blight-resistant potato cultivars. *Plant Genet. Res.*, 9: 309-312.
2. Colton L.M. et al., 2006. Marker-assisted selection for the broad-spectrum potato late blight resistance conferred by gene *RB* derived from a wild potato species. *Crop Sci.*, 46: 589-594.
3. 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.
4. Kim H.-J. et al., 2012. Broad spectrum late blight resistance in potato differential set plants MaR8 and MaR9 is conferred by multiple stacked *R* genes. *Theor. Appl. Genet.*, 124: 923-935.
5. 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.
6. 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.
7. Pankin A. et al., 2011. Allele mining in the gene pool of wild *Solanum* species for homologues of late blight resistance gene *RB/Rpi-blb1*. *Plant Genet. Res.*, 9: 305-308.
8. Lokossou A.A. et al., 2010. Diversity, distribution and evolution of *Solanum bulbocastanum* late blight resistance genes. *MPMI*, 23: 1206-1216.
9. Tan M.Y.A. et al., 2008. The *Rpi-mcd1* locus from *Solanum microdontum* involved in resistance to *Phytophthora infestans*, causing a delay in infection, maps on potato chromosome 4 in a cluster of NBS-LRR genes. *MPMI*, 21: 909-918.
10. Champouret N., 2010. Functional genomics of *Phytophthora infestans* effectors and *Solanum* resistance genes. PhD thesis. Wageningen Univ. 154 .
11. Ballvora A. et al., 2002. The *RI* gene for potato resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) belongs to the leucine zipper/NBS/LRR class of plant resistance genes. *Plant J.*, 30: 361-71.
12. Kuang H. et al., 2005. The *RI* resistance gene cluster contains three groups of independently evolving, type I *RI* homologues and shows substantial structural variation among haplotypes of *Solanum demissum*. *Plant J.*, 44: 37-51.
13. Huang S. et al., 2005. Comparative genomics enabled the isolation of the *R3a* late blight resistance gene in potato. *Plant J.*, 42: 251-261.
14. Li G. et al., 2011. Cloning and Characterization of *R3b*; Members of the *R3* Superfamily of Late Blight Resistance Genes Show Sequence and Functional Divergence. *Mol Plant Microbe Interact.*, 24: № 10, 1132-1142.
15. van der Vossen E. et al., 2003. An ancient *R* gene from the wild potato species *Solanum bulbocastanum* confers broad-spectrum resistance to *Phytophthora infestans* in cultivated potato and tomato. *Plant J.*, 36: 867-82.
16. Song J. et al., 2003. Gene *RB* cloned from *Solanum bulbocastanum* confers broad spectrum resistance to potato late blight. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100: 9128-33.
17. Oosumi T. et al., 2009. *Rpi-bl1* from *Solanum bulbocastanum* Confers Resistance to Late Blight in Transgenic Potatoes. *Am. J. Pot Res.*, 86: 456-465.
18. Vleeshouwers V.G. et al., 2008. Effector genomics accelerates discovery and functional profiling of potato disease resistance and *Phytophthora infestans* avirulence genes. *PLoS ONE*, 3(8): e2875.
19. Li K. B. et al., 2011. Mapping of the *S. demissum* late blight resistance gene *R8* to a new locus on chromosome IX. *Theor Appl Genet.*, 123:1331-1340.
20. Li K. B. et al., 2011. New species of the genus *Solanum* and their taxonomic position in the tribe Solani. *Botany in the Tropics of the tuber-bearing Solanums*. *Taxon*, 58: 489-492.

При выборе наиболее интересных генотипов для селекционных программ возникает вопрос о функции вновь выделенных CC-NBS-LRR гомологов генов устойчивости. В некоторых случаях сведения о новых аллелях *R* генов у малоизученных видов *Solanum* подтверждены клонированием и секвенированием [1], еще убедительнее данные других лабораторий, полученные методом коэкспрессии в *Nicotiana benthamiana* и трансформацией картофеля.

Гены-прототипы	SCAR маркеры найдены у видов	Картированные и клонированные гены и их гомологи	Гены клонированы из видов	Ко-экспрессия или комплементация у <i>N. benthamiay</i>	Трансформация картофеля
<i>R1</i>	<i>dms, hou, plt, sto, ber, mcd</i>	<i>R1</i> [11,12]	<i>dms</i> [11,12]	-	<i>R1 dms</i> [11]
<i>R2/Rpi-blb3</i>	<i>blb, hou, pnt</i>	<i>R2/Rpi-blb3</i> <i>Rpi-abpt</i> <i>R2-like</i> [8] <i>Rpi-mcd1</i> [9] <i>Rpi-edn1.1</i> <i>Rpi-hjt1.1, Rpi-hjt1.2,</i> <i>Rpi-hjt1.3</i> <i>Rpi-snk1.1, Rpi-snk1.2</i> [10]	<i>tub, dms, edn, snk</i> <i>hjt, blb, vrn, mcd</i> [8-10]	<i>R2 Rpi-blb3 Rpi-abpt R2-like</i> [8] <i>Rpi-mcd1</i> [9]	<i>R2 Rpi-abpt R2-like</i> [8] <i>Rpi-mcd1</i> [9]
<i>R3a</i>	<i>blb, hou, dms, cph, pld, mcd, plt, sto</i>	<i>R3a</i> [13] <i>Rpi-sto2</i> [10] <i>R8</i> [19] <i>R3b</i> [14] <i>R5, R6, R7, R9, R10, R11</i> [13]	<i>tub, dms</i> [6], <i>sto</i> [10,1], <i>blb, cph, hou, plt</i> [1]	<i>Rpi-sto2, dms, sem, mcd, sto, cph, ehr</i> [10]	
<i>R3b</i>	<i>blb, hou, dms, cph, hjt, jam, pnt, ver, sto, plt</i>	<i>R3b</i> [14] <i>R3a</i> [13] <i>R8</i> [19] <i>R5, R6, R7, R9, R10, R11</i> [13]	<i>dms</i> [8]	-	
<i>RB/Rpi-blb1</i>	<i>blb, hou, dms, cph, hjt, jam, pnt, ver, pld, ber, sto, plt, mcd</i>	<i>RB/Rpi-blb1</i> [15,16] <i>Rpi-bt1</i> [17] <i>RB ver</i> [6] <i>Rpi-sto1, Rpi-ptal, Rpi-plt1</i> [3]	<i>blb, sto, ver, plt</i> [3,6,15-18]		<i>RGA3</i> [15], <i>RB</i> [16, 18], <i>Rpi-bt1</i> [17], <i>RBver</i> [6]

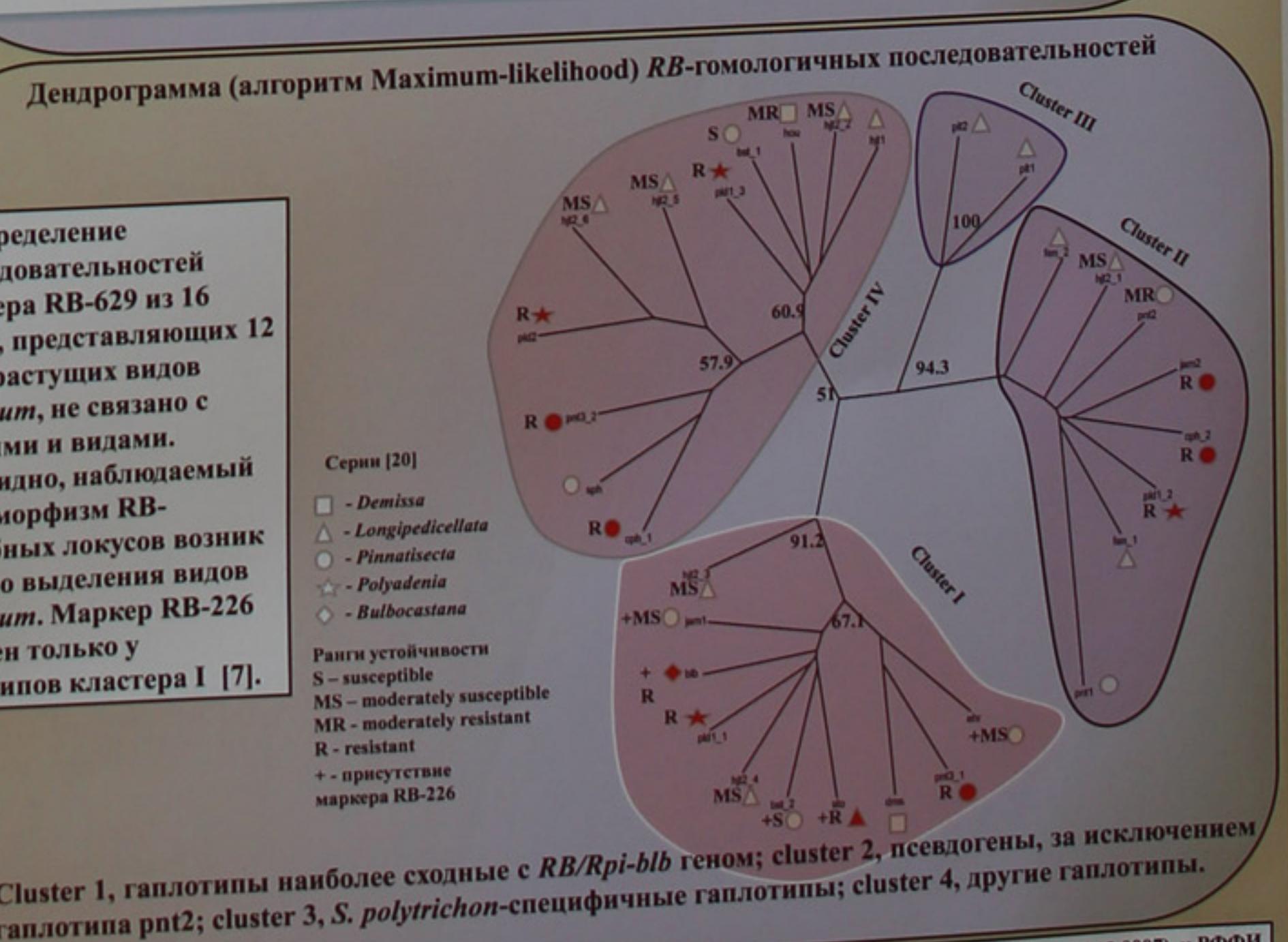
ber - *S. berthaultii*, cph (ehr)- *S. cardiophyllum*=*S. ehrenbergii*, dms - *S. demissum*, edn - *S. edinense*, hou-
S. *hougasii*, hjt - *S. hjertingii*, jam - *S. jamesii*, tbr -*S. tuberosum*, mcd - *S. microdontum*, pnt - *S. pinnatisectum*, plt - *S. polytrichon* = *S. stoloniferum*, pld - *S. polyadenium*, sem - *S. semidemissum*, snk - *S. schenckii*, sto - *S. stoloniferum*, tbr - *S. tuberosum*, vrn - *S. vernei*, ver - *S. verrucosum*.

Последовательности маркера R1-1205, клонированные из *S. polytrichon* и *S. stoloniferum*, и маркера R3a-1380, клонированные из *S. bulbocastanum*, *S. cardiophyllum*, *S. hougasii*, *S. polytrichon* и *S. stoloniferum*, были на 98-99% сходны с соответствующими участками генов-прототипов. Сравнение фрагмента R3a-1380 из дикорастущих *Solanum* с геном R3a из *S. demissum*, геном I2 томатов и неактивными гомологами гена R3a свидетельствует о том, что маркер R3a-1380 соответствует активному гену R3a [1].



blb - *S. bulbocastanum*;
 cph - *S. cardiophyllum*;
 dms* - *S. demissum* gene *R3a*;
 hou - *S. hougasii*;
 lyc - *S. lycopersicum* gene *I2*;
 plt - *S. polytrichon*;
 sto - *S. stoloniferum*;
 tub - *S. tuberosum*.

Дендрограмма (алгоритм Maximum Likelihood), сравнивающая последовательности маркера R3a-1380 из дикорастущих *Solanum* (в рамке) с функциональными генами R3a, I2 и неактивными гомологами гена R3a.



Cluster 1, гаплотипы наиболее сходные с *RB/Rpi-blb* геном; cluster 2, гаплотипы, несущие гаплотипа *pnt2*; cluster 3, *S. polytrichon*-специфичные гаплотипы; cluster 4, другие гаплотипы.