

УДК 575+576.8

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГРУПП СЦЕПЛЕНИЯ КАПУСТЫ БЕЛОКОЧАННОЙ (*B. OLERACEA* L.) С ГЕНОМ УСТОЙЧИВОСТИ К КИЛЕ

**Комаревцева Анна Игоревна**, магистрант, Институт садоводства и ландшафтной архитектуры, Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К. А. Тимирязева, Российская Федерация, 127555, г. Москва, ул. Прянишникова, 6

**Монахос Сократ Григорьевич**, доктор сельскохозяйственных наук, доцент, заведующий кафедрой ботаники, селекции и семеноводства садовых растений, Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К. А. Тимирязева, Российская Федерация, 127555, г. Москва, ул. Прянишникова, 6, [s.monakhos@rgau-msha.ru](mailto:s.monakhos@rgau-msha.ru)

*Актуальность данной проблемы объясняется тем, что кила наносит во всем мире огромный ущерб сельскохозяйственным культурам, а в частности капусте белокочанной. Самый эффективный способ справиться с заболеванием – создание генетически устойчивых сортов и гибридов. У представителей *B. oleracea* обнаружена только полигенная рецессивная устойчивость. Для создания растений *B. oleracea* с моногенной доминантной устойчивостью к киле было предложено передавать гены устойчивости из растений *B. gara* с таким типом устойчивости. Для надёжности устойчивости от разных рас установлена необходимость объединять в одном генотипе несколько доминантных генов устойчивости, которые мы сможем идентифицировать с помощью молекулярных маркеров.*

**Ключевые слова:** молекулярный маркер, кила, устойчивость, восприимчивость, капуста белокочанная, *Brassica oleracea*, аллели

### DETERMINATION OF CLUTCH GROUPS IN CABBAGE (*B. OLERACEA* L.) WITH KEEL RESISTANCE GENE

**Komarevtseva Anna Igorevna**, masters student, Institute of Horticulture and Landscape Architecture, Russian State Agrarian University – Moscow Agricultural Academy named after K. A. Timiryazeva, 6 Pryanishnikova St., Moscow, 127555, Russian Federation

**Monakhos Sokrat Grigorievich**, Doctor of Agricultural Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Botany, Breeding and Seed Production of Garden Plants, Russian State Agrarian University – Moscow Agricultural Academy named after K. A. Timiryazeva, 6 Pryanishnikova St., Moscow, 127555, Russian Federation, [s.monakhos@rgau-msha.ru](mailto:s.monakhos@rgau-msha.ru)

*The urgency of this problem is explained by the fact that keela causes enormous damage to agricultural crops all over the world, and in particular to white cabbage. The most effective way to cope with the disease is to create genetically resistant varieties and hybrids. In representatives of *B. oleracea*, only polygenic recessive resistance was found. To create*

*B. oleracea plants with monogenic dominant resistance to keel, it was proposed to transfer resistance genes from B.rapa plants with this type of resistance. For reliable resistance from different races, it has been established that it is necessary to combine several dominant resistance genes in one genotype, which we can identify using molecular markers.*

*Keywords: molecular marker, keela, resistance, susceptibility, white cabbage, Brassica oleracea, alleles*

**Введение.** Кила – одно из трёх наиболее вредоносных заболеваний капусты белокочанной и других разновидностей вида *Brassica oleracea* L. Возбудитель килы (*Plasmodiophora brassicae* Wor.) относится к облигатным паразитам. Распространён практически во всех местах возделывания капусты. В северно-западных районах России ежегодно поражает до 50–75 % от общего количества выращенных растений, а урожай при этом снижается на 10 – 60 % [2].

Главным симптомом поражения является разрастание паренхимной ткани корней и образование желваков. Это приводит к нарушению поступления воды и питательных веществ из почвы, происходит угнетение растения и снижение урожайности.

Заселённая патогеном почва является источником инфицирования капусты килой. Покоящиеся споры возбудителя обладают высокой устойчивостью и могут сохраняться от 5 до 15 лет, что осложняет меры борьбы. Отсюда следует, что заболевание распространяется орудиями обработки почвы, с заражённой рассадой капусты, растительными остатками, поливными и паводковыми водами [1].

Возделывание устойчивых сортов и гибридов капустных культур является наиболее целесообразным методом борьбы с *P. brassicae*. У всех представителей семейства крестоцветных селекция на устойчивость к киле ведётся давно, в результате чего было создано много килоустойчивых сортов и гибридов, однако на сегодняшний день не выведено абсолютно устойчивого сорта или гибрида F1 [3].

Цель данной работы – поиск и разработка молекулярного маркера гена устойчивости капусты белокочанной (*Brassica oleracea*) к киле. Для достижения поставленной цели были выполнены следующие задачи: создание картирующей популяции от скрещивания устойчивой к киле (R) и восприимчивой (S) линий капусты белокочанной; скрининг полиморфизма и оценка силы сцепления полиморфных SSR-маркеров C1-C9 групп сцепления *B. oleracea* с локусом устойчивости/восприимчивости к киле.

### **Материалы и методы исследования**

**Растительный материал.** Для поиска / разработки молекулярного маркера была создана картирующая популяция BC1: [Гэс<sub>MC</sub> × (№ 5 × Дт) × Дт].

Были применены следующие методы: выращивание и подготовка растений; оценка устойчивости / восприимчивости к киле на искусственном инфекционном фоне [2]; выделение ДНК (СТАВ-методом) [5]; ПЦР-анализ; электрофорез и визуализация (BIO-RAD); оценка сцепления маркер / признак.

*Статистический анализ* расщепления проводили с использованием критерия  $\chi^2$  в соответствии с теоретически ожидаемым расщеплением 1 : 1. Частоту рекомбинации между геном устойчивости к киле и ДНК-маркером определяли как отношение числа растений с наличием или отсутствием ДНК-маркера, несоответствующих фенотипическому проявлению признака устойчивости к киле, к общему числу растений, умноженное на 100.

Молекулярно-генетическую оценку расщепляющейся популяции капусты белокочанной [Гэс<sub>мс</sub> × (№ 5 × Дт) × Дт] проводили BSA-методом с помощью общедоступных маркеров на хромосомы С-генома *B. oleracea*.

### **Результаты исследований**

Была проведена амплификации на ВС1- популяции с SSR-маркерами на С-геном *B. oleracea*. Методом массового сегрегационного анализа с использованием 36 SSR-праймеров и смесей ДНК 10 устойчивых и 10 восприимчивых растений ВС выявлено небольшое число – 10 полиморфных ДНК-фрагментов, потенциальных полиморфных маркеров на хромосомы (табл.).

Таблица

**Потенциальные полиморфные маркеры на хромосомы С-генома *Brassica oleracea***

| Наименование хромосомы С-генома <i>B. oleracea</i> | Молекулярные маркеры                        |
|--|---|
| C04  | BoESSR303, BoESSR845                        |
| C06  | BoESSR863, sR12387                          |
| C08  | BoESSR702, BoESSR719                        |
| C09  | PBCGSSRBo2, BoESSR061, BoESSR035, BoESSR570 |

Из выделенных полиморфных маркеров связаны с геном устойчивости к киле: BoESSR863, sR12387, BoESSR845. Для определения силы сцепления предварительно провели анализ на всей популяции [Гэс<sub>мс</sub> × (№ 5 × Дт) × Дт] поочередно со каждым из маркеров, указанных выше.

Генотипированием 146 индивидуальных растений расщепляющейся популяции ВС и статистическим анализом с использованием критерия хи-квадрат было установлено, что расщепление маркера sR12387 соответствует моногенной модели наследования. Расщепление маркеров BoESSR845, BoESSR863, BoESSR570 отклоняется от менделевского 1 : 1. После оценки силы сцепления (частоты рекомбинации) SSR-маркеров с локусом устойчивости отметить слабую связь маркеров BoESSR845, BoESSR863, sR12387 и независимое наследование маркера BoESSR570.

**Заключение.** Методом массового сегрегационного анализа устойчивых и восприимчивых растений картирующей популяции ВС1 с использованием 36 SSR-маркеров генома С выявлено 10 полиморфных. Оценка сила сцепления полиморфных SSR-маркеров С-генома *B. oleracea* с локусами устойчивости / восприимчивости выявила 3 маркера со слабой силой сцепления с локусом устойчивости: сила сцепления маркеров sR12387, BoESSR863, BoESSR845. Несмотря на слабую силу сцепления молекулярных маркеров

с признаком устойчивости к киле, данная информация позволила определить потенциальные группы сцепления генома СС с интрогрессированным геном устойчивости С04 и С06. Это позволит с использованием большего числа молекулярных маркеров данных групп сцепления определить локус с геном устойчивости к киле.

#### **Список литературы**

1. Монахос, Г. Ф. Оценка устойчивости капусты к киле (возбудитель – *Plasmodiophora brassicae* Wor.) : уч.-метод. пособие / Г. Ф. Монахос, Ф. С. Джалилов, С. Г. Монахос. – Москва : Тимирязевская с.-х. акад., 2009. - 24 с.
2. Герасимов, Б. А. Вредители и болезни овощных культур / Б. А. Герасимов, Е. А. Осницкая. – 3-е изд., испр. и доп. – Москва : Сельхозгиз, 1955. – 607 с.
3. Нгуен, М. Л. Новый локус устойчивости к киле в хромосоме А05 капусты пекинской (*Brassica rapa* L.) / М. Л. Нгуен, Г. Ф. Монахос, Р. А. Комахин, С. Г. Монахос // Генетика. – 2018. – Т. 54, № 3. – С. 306–315.
4. Murray, M. G. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA / M. G. Murray, W. F. Thompson // Nucl. Acids. Res. – 1980. – Vol. 8. – P. 4321–4325. DOI: 10.1093/nar/8.19.4321.
5. Buczacki, S. Study of physiologic specialization in *Plasmodiophora brassicae*: proposals for attempted rationalization through an international approach / S. Buczacki, H. Toxopeus, P. Mattusch, T. Johnston, G. Dixon, L. Hobolth // Trans. Br. mycol. Soc. – 1975. – P. 295–303.

#### **References**

1. Monakhos G. F., Dzhaliylov, F. S., Monakhos, S. G. Otsenka ustoychivosti kapusty k kile (vozbuditel – *Plasmodiophora brassicae* Wor.) [Assessment of the resistance of cabbage to keel (causative agent – *Plasmodiophora brassicae* Wor.)]. Moscow, Moscow Agricultural Academy named after K. A. Timiryazeva Publ. House, 2009, 24 p.
2. Gerasimov, B. A., Osnickaya, E. A. *Vrediteli i bolezni ovoshchnykh kultur* [Pests and diseases of vegetable crops]. Moscow, Selkhozgiz Publ. House, 1955, 3<sup>rd</sup> ed., 607 p.
3. Nguen, M. L., Monakhos, G. F., Komakhin, R. A., Monakhos, S. G. Novyy lokus ustoychivosti k kile v khromosome A05 kapusty pekinskoy (*Brassica rapa* L.) [New locus of resistance to carina on chromosome A05 of Peking cabbage (*Brassica rapa* L.)]. *Genetika* [Genetics], 2018, vol. 54, no 3, pp. 306–315.
4. Murray, M. G., Thompson, W. F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucl. Acids. Res.*, 1980, vol. 8, pp. 4321–4325. DOI: 10.1093/nar/8.19.4321.
5. Buczacki, S., Toxopeus, H., Mattusch, P., Johnston, T., Dixon, G., Hobolth, L. Study of physiologic specialization in *Plasmodiophora brassicae*: proposals for attempted rationalization through an international approach. *Trans. Br. mycol. Soc.*, 1975, pp. 295–303.