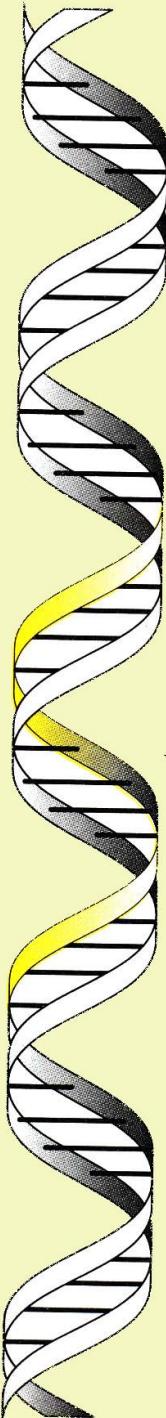
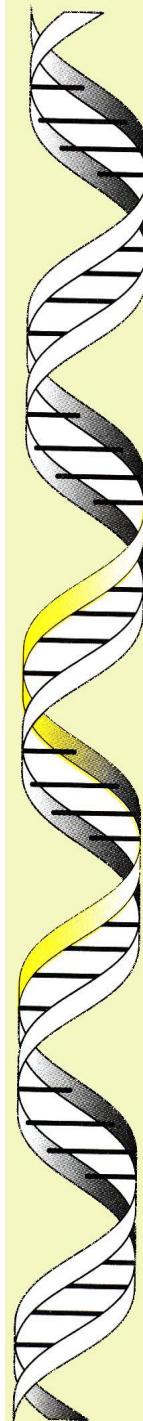


Молекулярно-генетическое картирование генома злаковых: фундаментальные и прикладные исследования

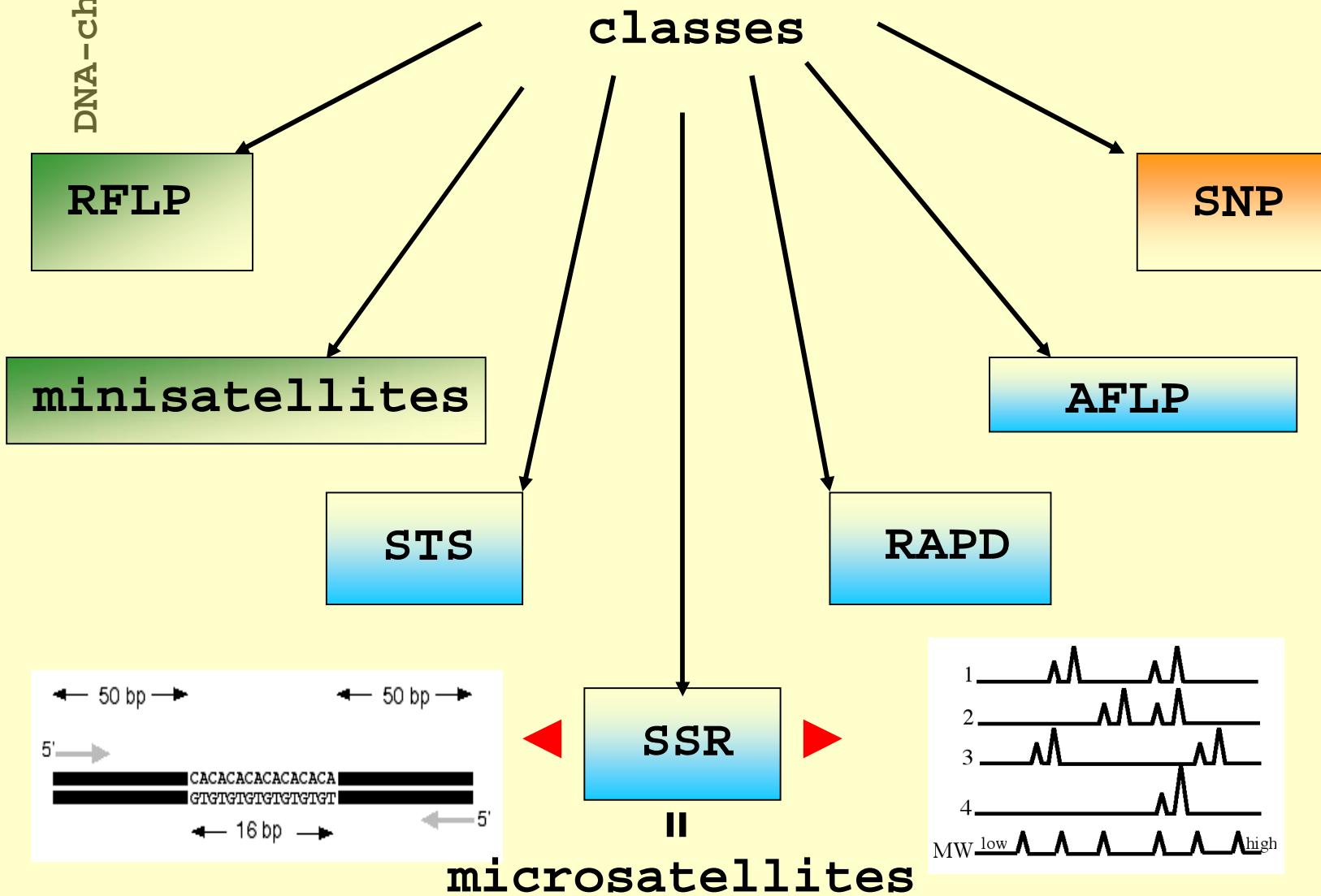


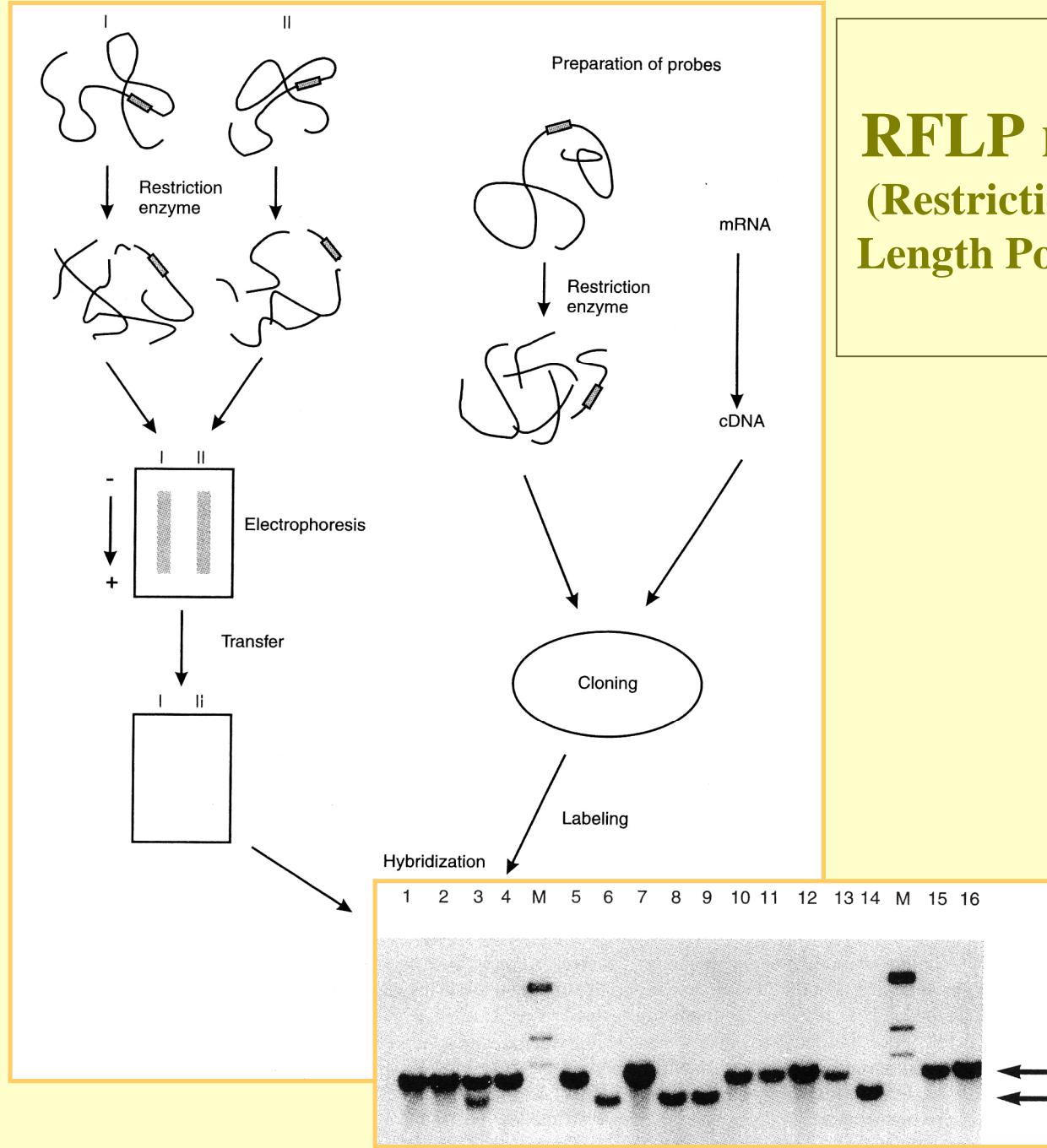
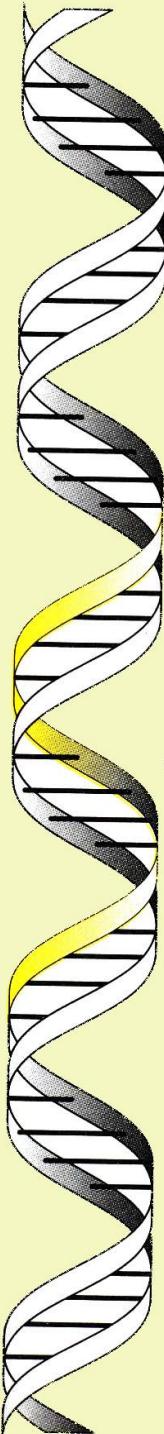
История картирования хромосом

- 1911 - Томас Хант Морган (Thomas Hunt Morgan) со своими студентами, изучая расщепление мутаций у плодовых мушек *Drosophila melanogaster*, предложили модель, в которой гены расположены линейно и их способность к обмену (кроссоверу) пропорциональна расстоянию между ними.
- 1913 - Стёртевант опубликовал генетическую карту X-хромосомы дрозофилы (Sturtevant, 1913).
- 1946 - установлено сцепление для 21 пары признаков у пшеницы, причем генетическое расстояние было определено только между генами 8 групп сцепления (Ausemus et al., 1946).
- 1957 -



MOLECULAR MARKERS





RFLP маркеры (Restriction Fragment Length Polymorphism)

Микросателлитные маркеры (SSR –simple sequences repeats)

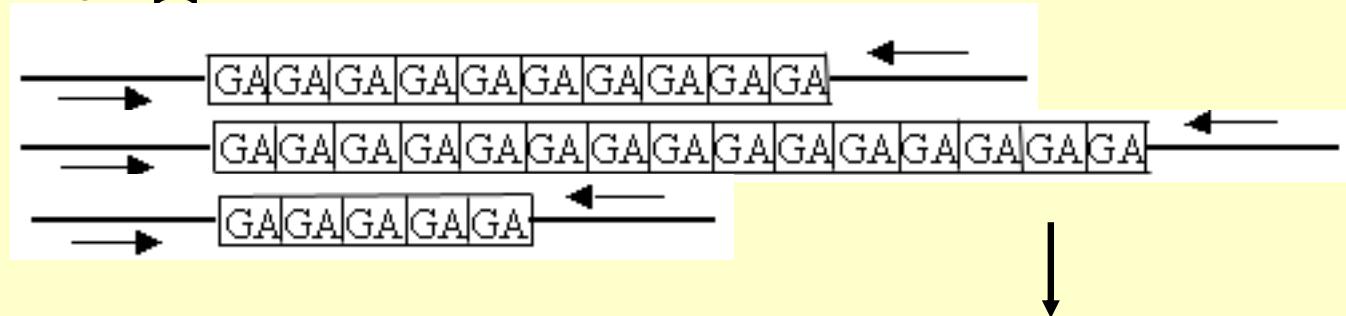
Схема анализа

- Выделение геномной ДНК

растение 1

растение 2

растение 3

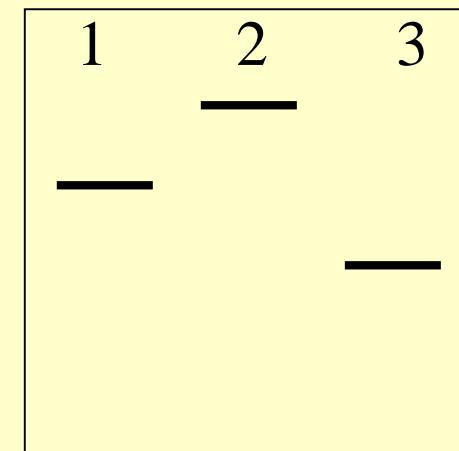


- ПЦР амплификация
- Электрофоретический анализ

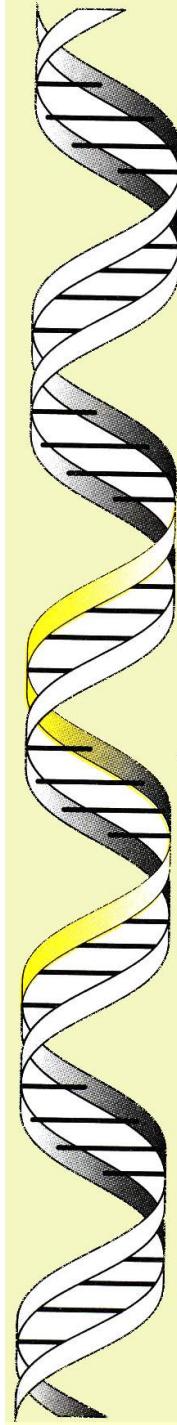
Агарозный гель высокого разрешения

Полиакриамидный гель

Денатурирующий полиакриламидный гель

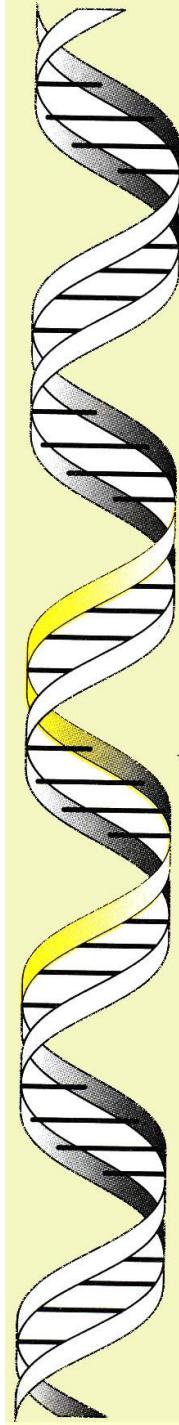


В 1993 году американский ученый Кэрри Мюллис за открытие метода ПЦР (1985 г.) был удостоен Нобелеской премии.

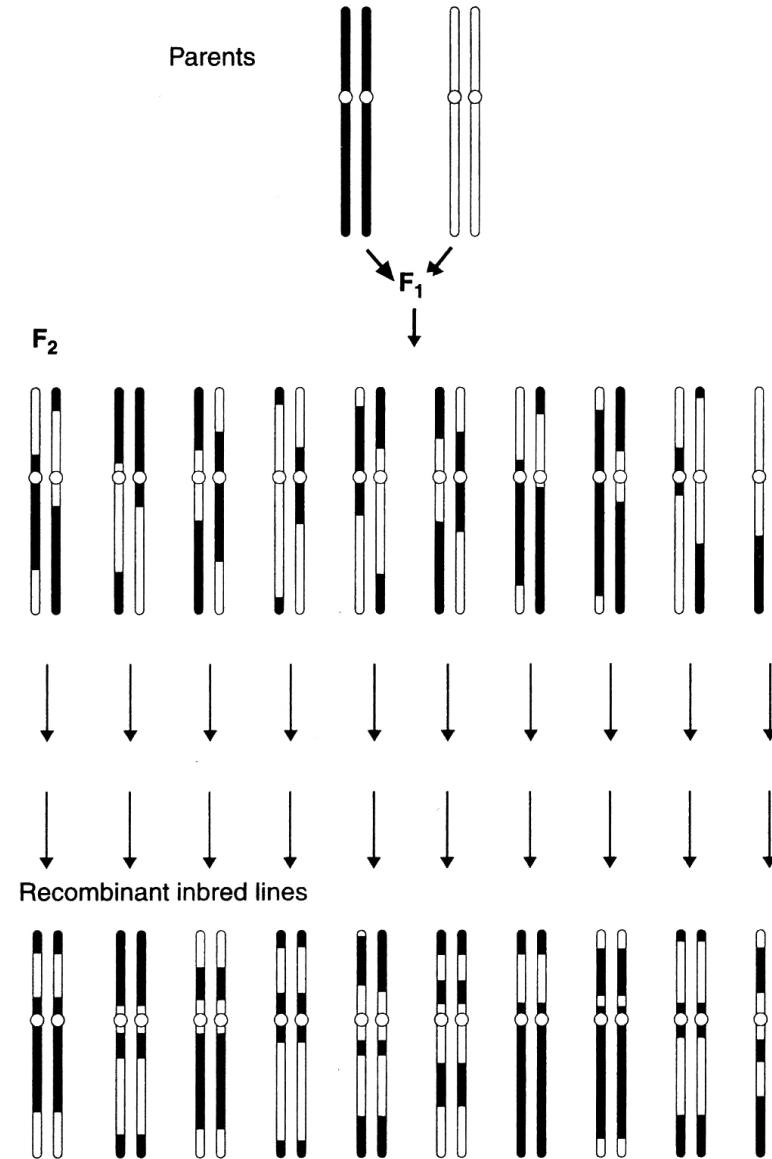


Основные характеристики RFLP и SSR маркеров

	RFLP	SSR/микросателлиты
Вид полиморфизма	Мутации, Делекции, Инсерции	Изменения числа копий повторов
Метод	Рестрикция, Саузерн-гибридизация	ПЦР
Уровень полиморф.	Низкий, средний	Высокий
Количество ДНК	2-10 mg	50-100ng
Применение радиоактив.	Да/Нет	Нет
Межвидов. использов.	Да	Иногда



Картирование генома: популяции

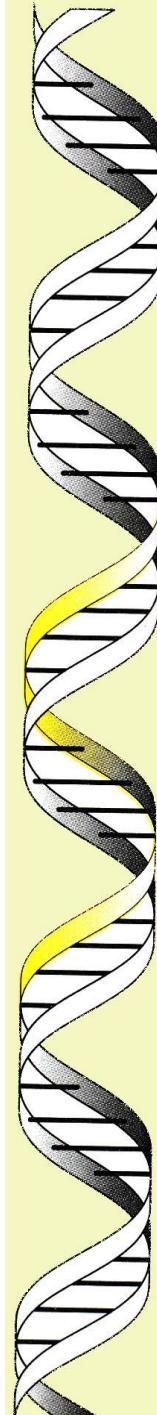


$F_5 - 93.75 \%$

$F_6 - 96.88 \%$

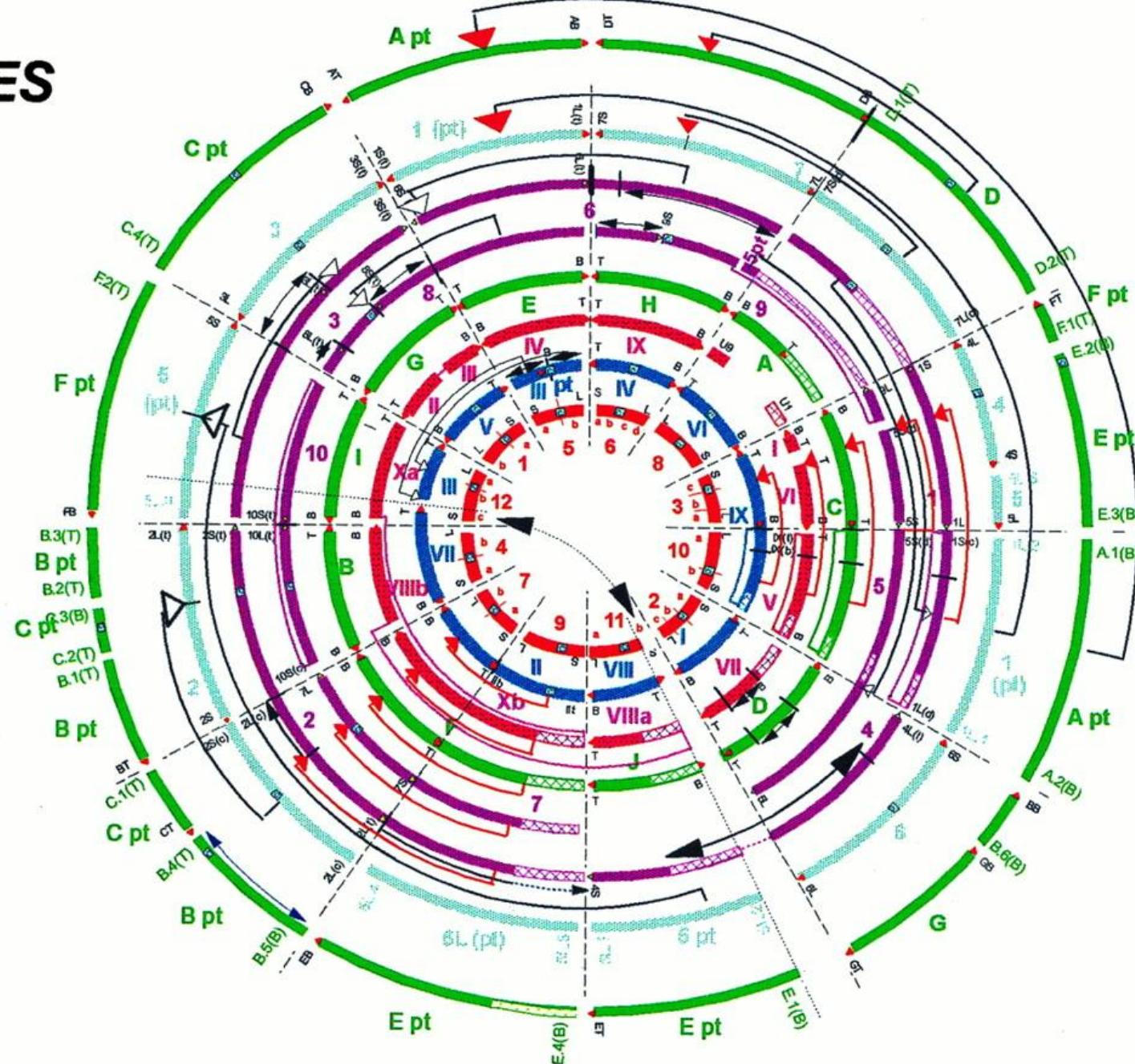
$F_7 - 98.44 \%$

$F_{10} - 99.80 \%$



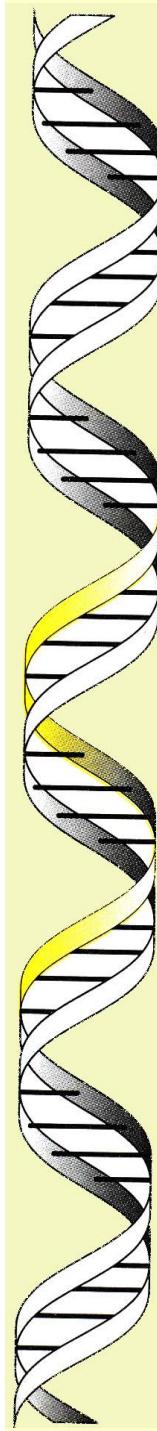
GRASS GENOMES

Oats
Triticeae
Maize
Sorghum
Sugar cane
Foxtail millet
Rice



Gale, Michael D. and Devos, Katrien M. (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95, 1971-1974

Copyright ©1998 by the National Academy of Sciences

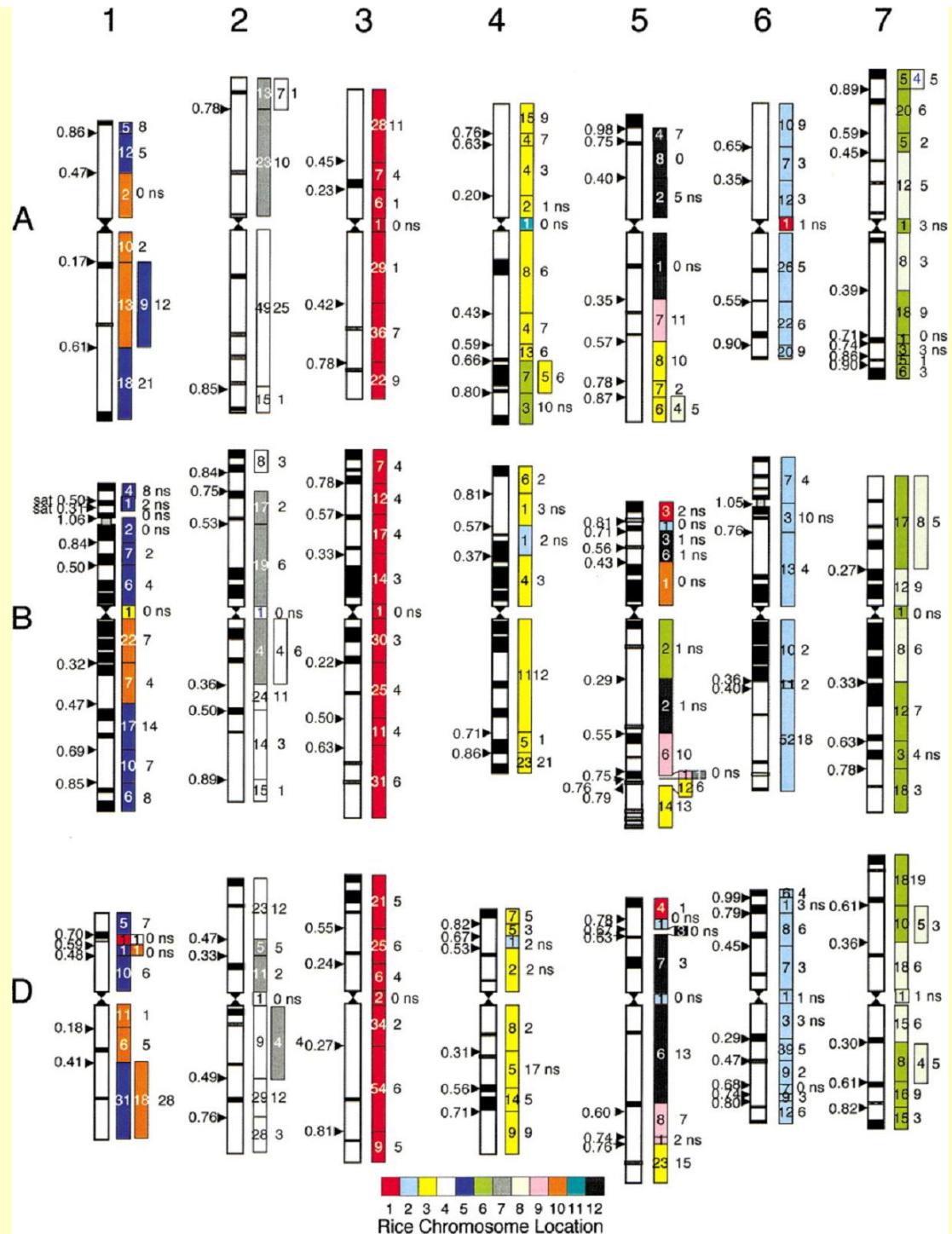


Размер генома

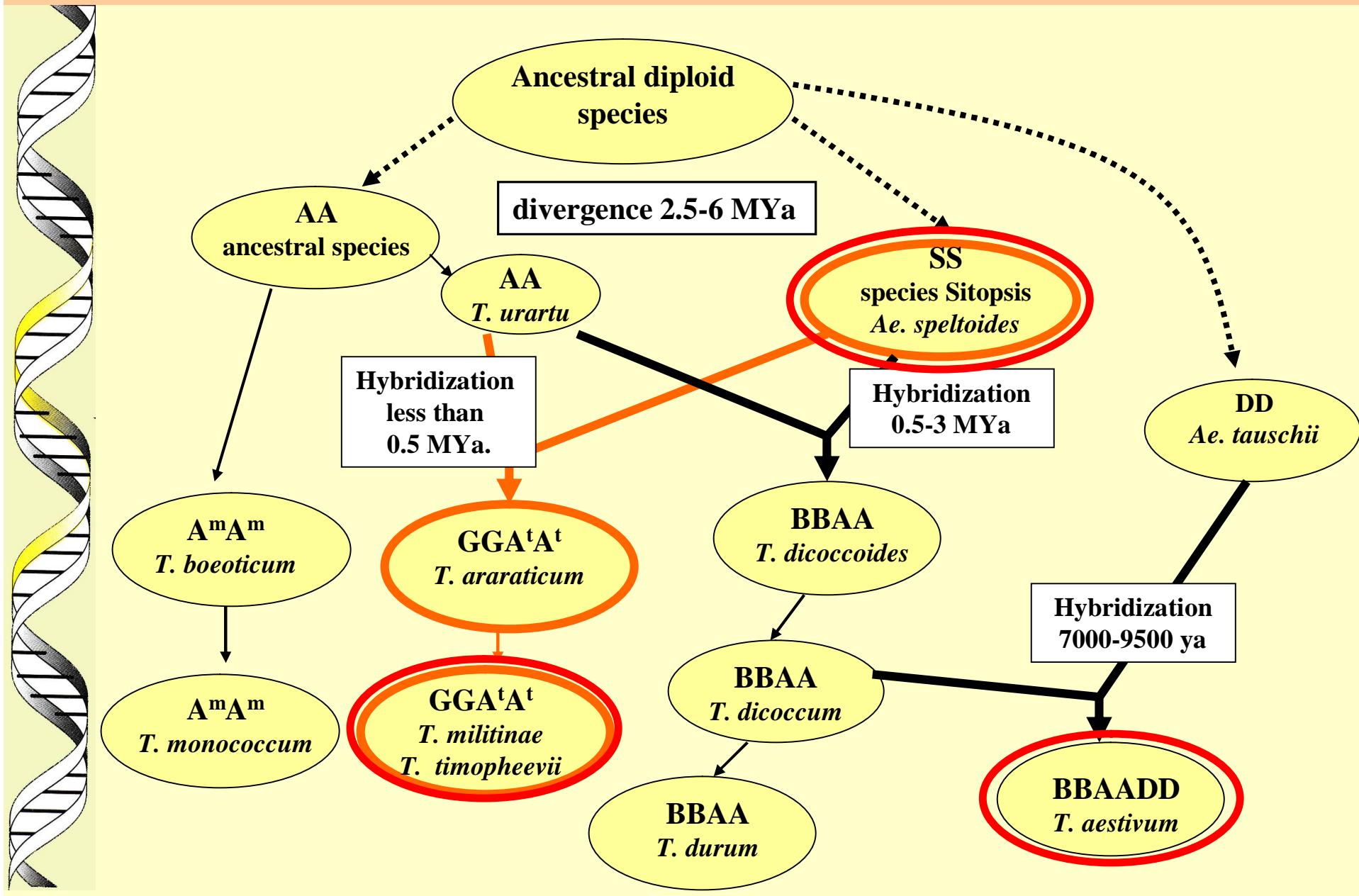
Пшеница - 17000 млн.п.н.

Рис - 389 млн.п.н

Сравнительный
анализ хромосом
пшеницы и риса
(Sorrells et al., 2003).

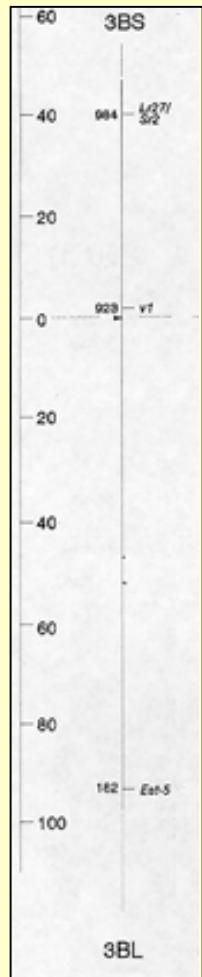


A schematic of the evolutionary history of wheat species

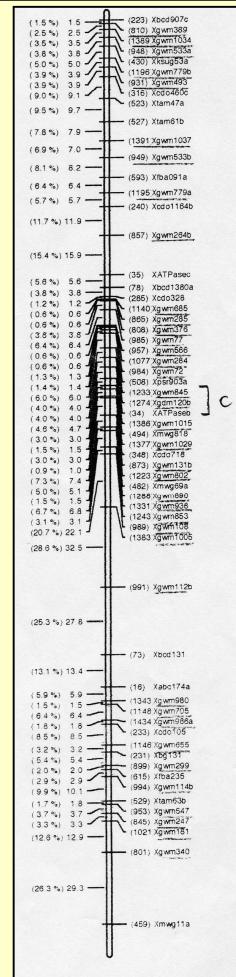


Развитие работ по картированию хромосом *T. aestivum* (на примере хромосомы 3B)

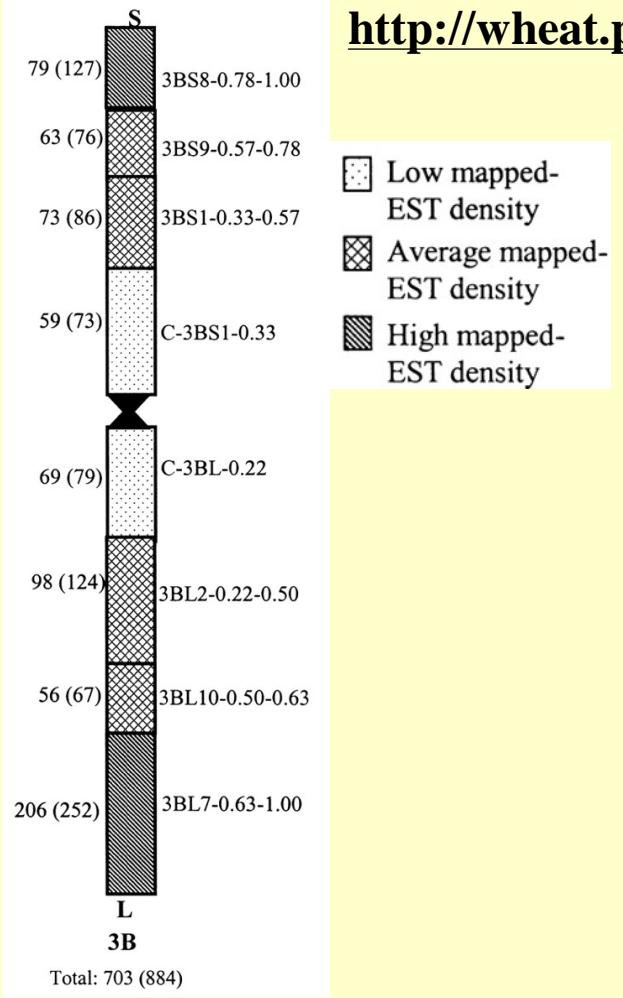
до 1993:
414 генов на
геном



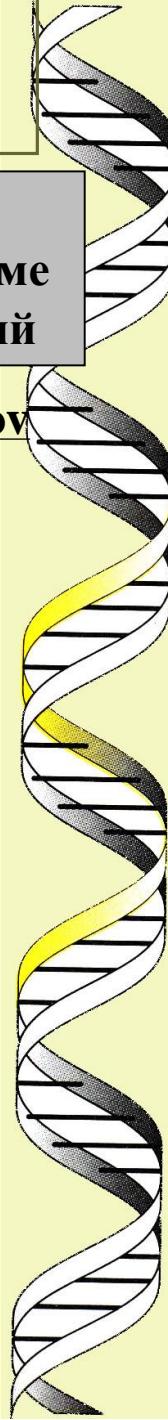
2003:
11500 генов/
маркеров на
геном



после 2004:
703 ESTs были картированы на хромосоме
3B с использованием делеционных линий

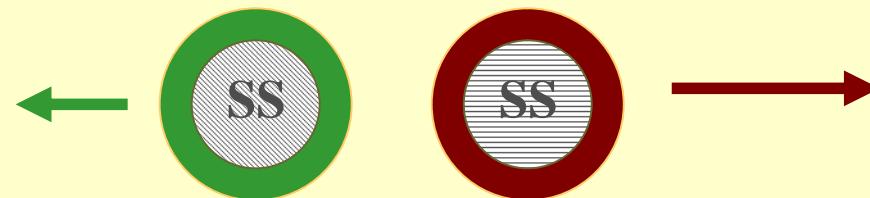


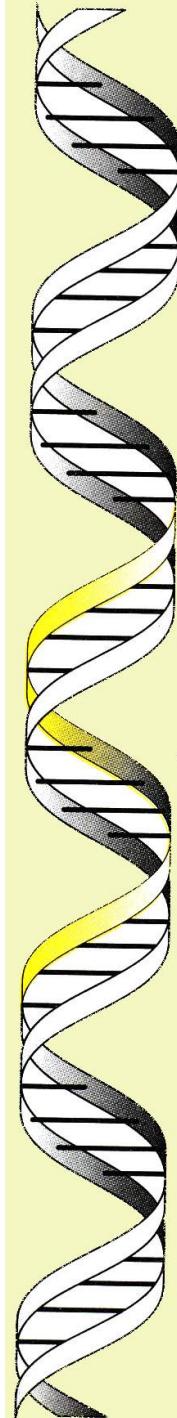
<http://wheat.pw.usda.gov>





Ae. speltoides
Ae. longissima
Ae. sharonensis
Ae. searsii
Ae. bicornis





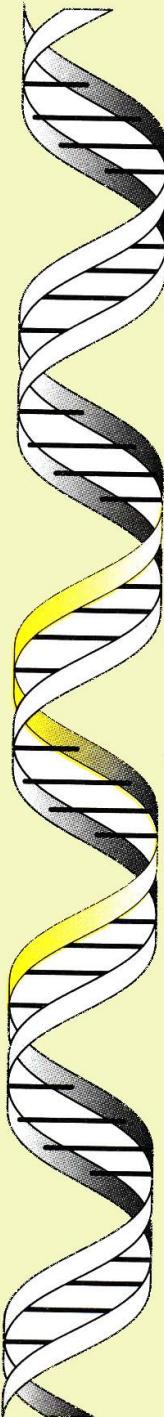
T. timopheevii
GA

F2 популяции

- T. timopheevii* (ssp. *viticulosum*) x
T. timopheevii (k38555)
T. timopheevii (ssp. *viticulosum*) x
T. timopheevii (var. *timopheevii*)
T. timopheevii (ssp. *viticulosum*) x
T. militinae
T. timopheevii (var. *timopheevii*) x
T. militinae
T. timopheevii (var. *timopheevii*) x
T. timopheevii (k-38555)
***T. timopheevii* (var. *timopheevii*) x**
***T. timopheevii* (var. *typica*)**
T. timopheevii* (k-38555) x *T. militinae

Микросателлиты

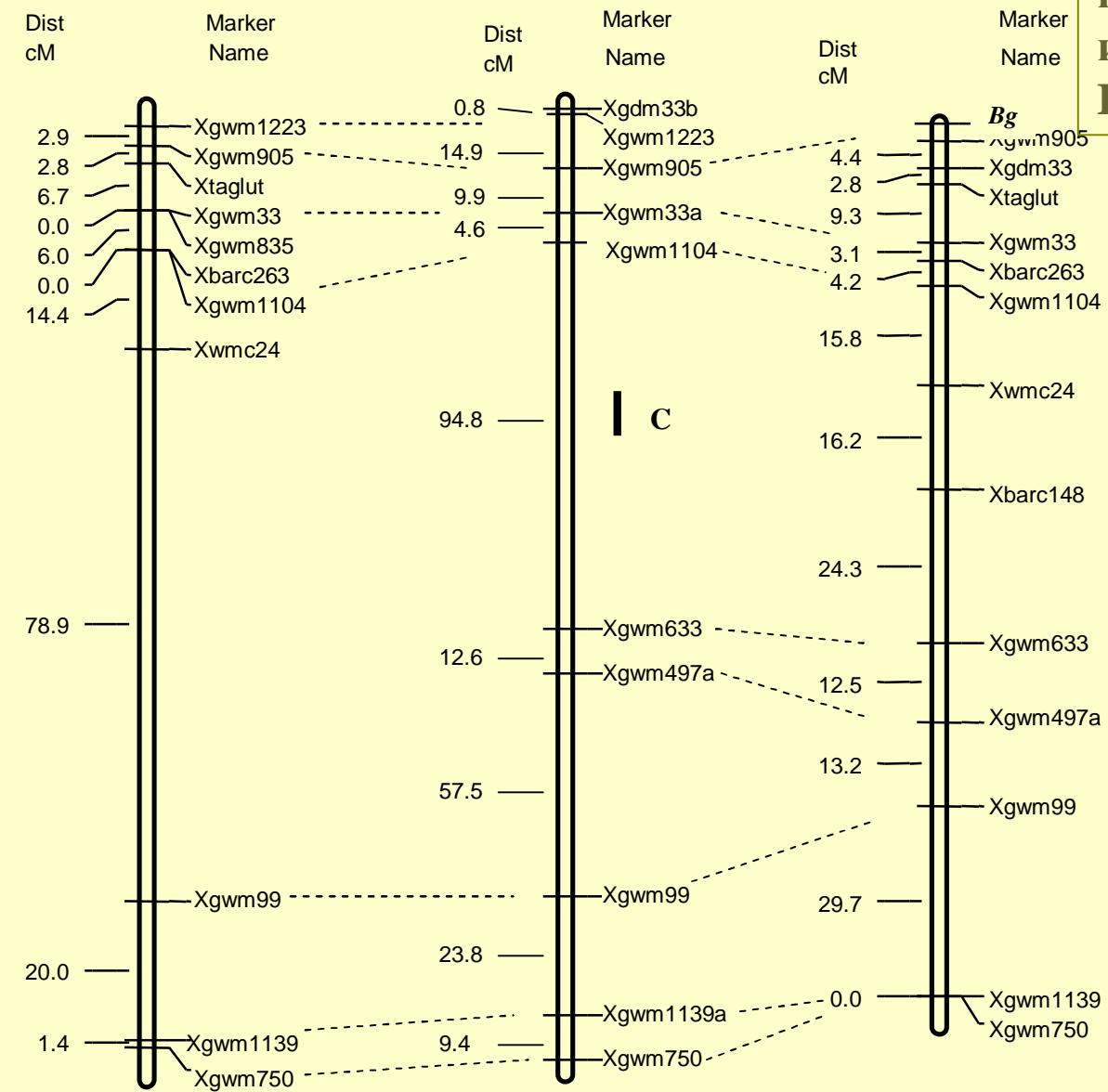
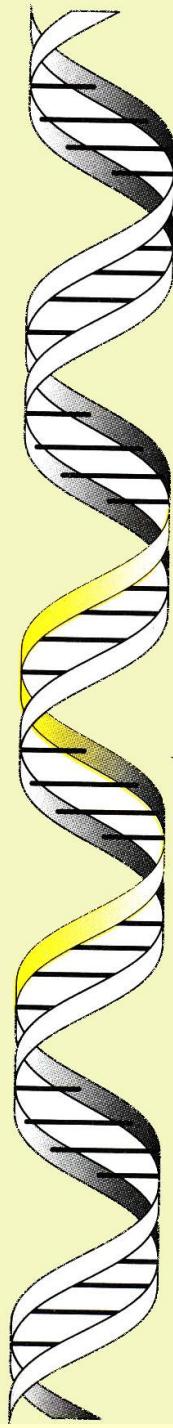
- WMS 136
WMS 18
WMS 659
WMS 636
WMS 369
WMS 707
WMS 165
WMS 186
WMS 334
WMS 427
WMS 471
WMS 60



Количество микросателлитных маркеров, картированных на хромосомах *T. aestivum* и *T. timopheevii*

	А геном	В геном	Д геном	Г геном
Всего у <i>T. aestivum</i>	250	309	254	
Из них				
проверено для AG	250	309	254	
отсутствуют в AG	21%	48%	67%	
<i>T. timopheevii</i> + <i>T. militinae</i>	93 +2D			45 +10D 14,5%

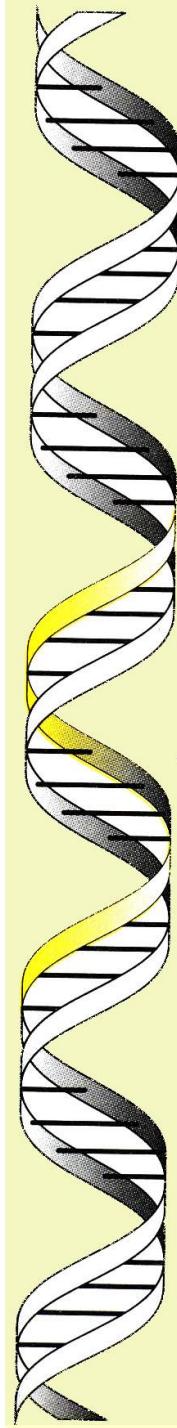
**Микросателлитные
карты 1A^t хромосом
и их сравнение с 1A
ITMI популяции**



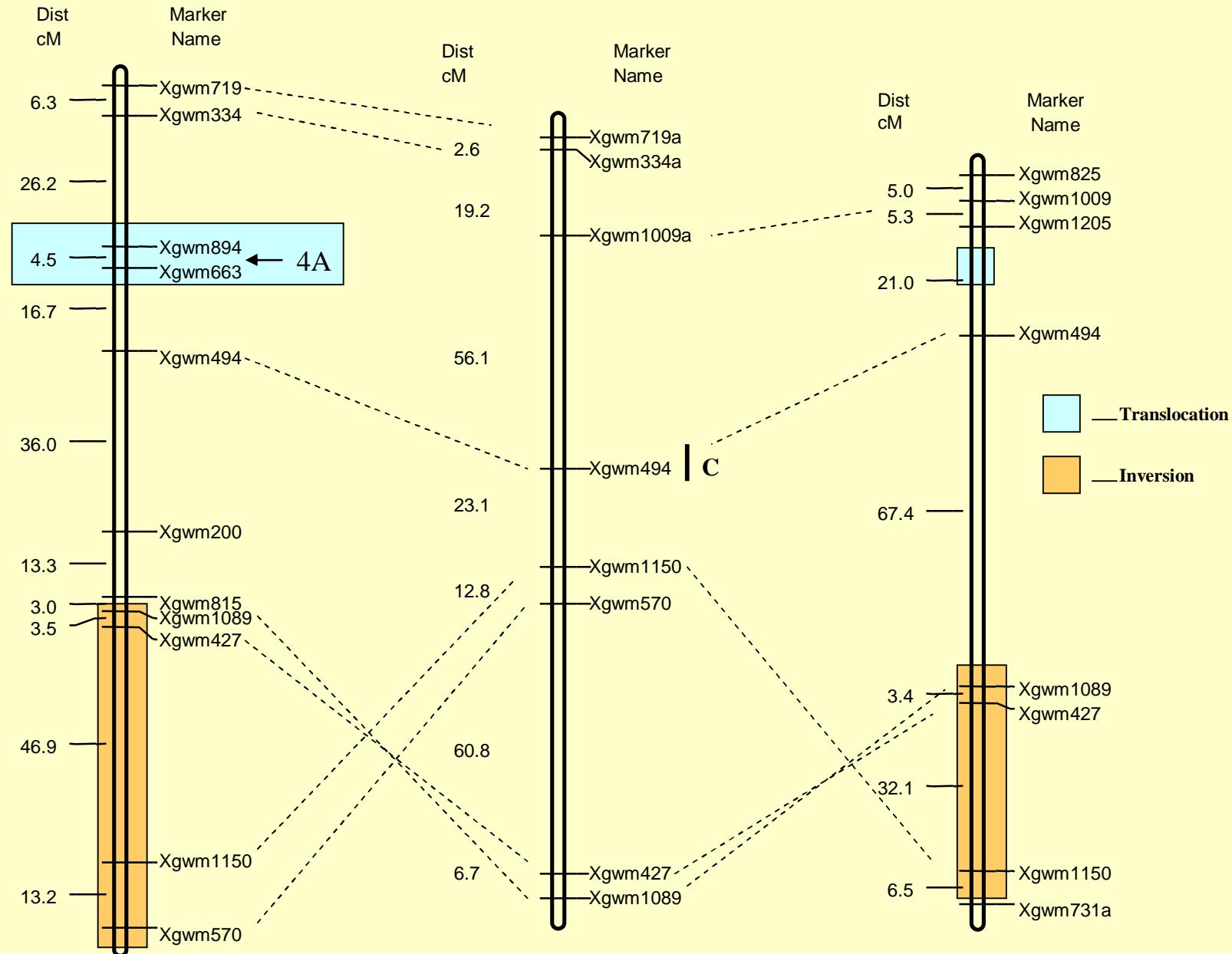
T. timopheevii x *T. timopheevii*

ITMI population

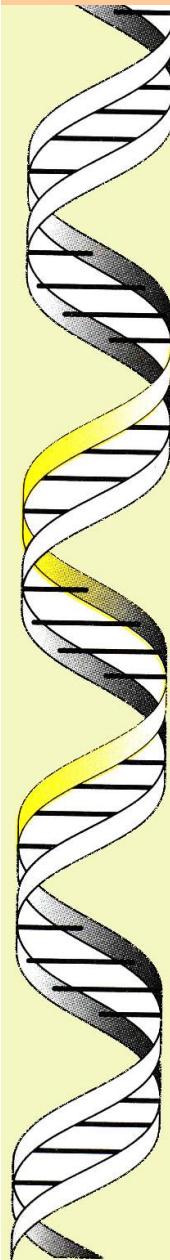
T. timopheevii x *T. militinae*



Микросателлитные карты 6A^t хромосом и их сравнение с 6A ITMI популяции



Translocations and rearrangements observed in *T. timopheevii*



Translocation described previously

T6A^tS/1GS, distal region (a,
b)
1GS/4GS, distal region (b)

T4A^tL/3A^tL, distal region (b)

T4GS/4A^tL, distal region (b)

T4A^tL/5A^tL, distal region (c)

Not shown

Not shown

Translocation found in this work

1GS, TBP within *Xgdm 84 - Xgwm1268*
Not found, distal markers are absent
Putative TBP within *Xgwm391-Xgwm1229* (no linkage)

Not found, distal markers are absent
TBP within *Xgwm982-Xgwm126*
T4A^t/6A^tS, interstitial region
6A^tL inversion

a) Jiang and Gill, 1994; b) Rodrigues et al., 2001;
c) Maestra and Naranjo, 1999;

TBP, translocation breakpoint



Ae. speltoides
Ae. longissima
Ae. sharonensis
Ae. bicornis
Ae. searsii

Section
Sitopsis
 $2n=14$
SS

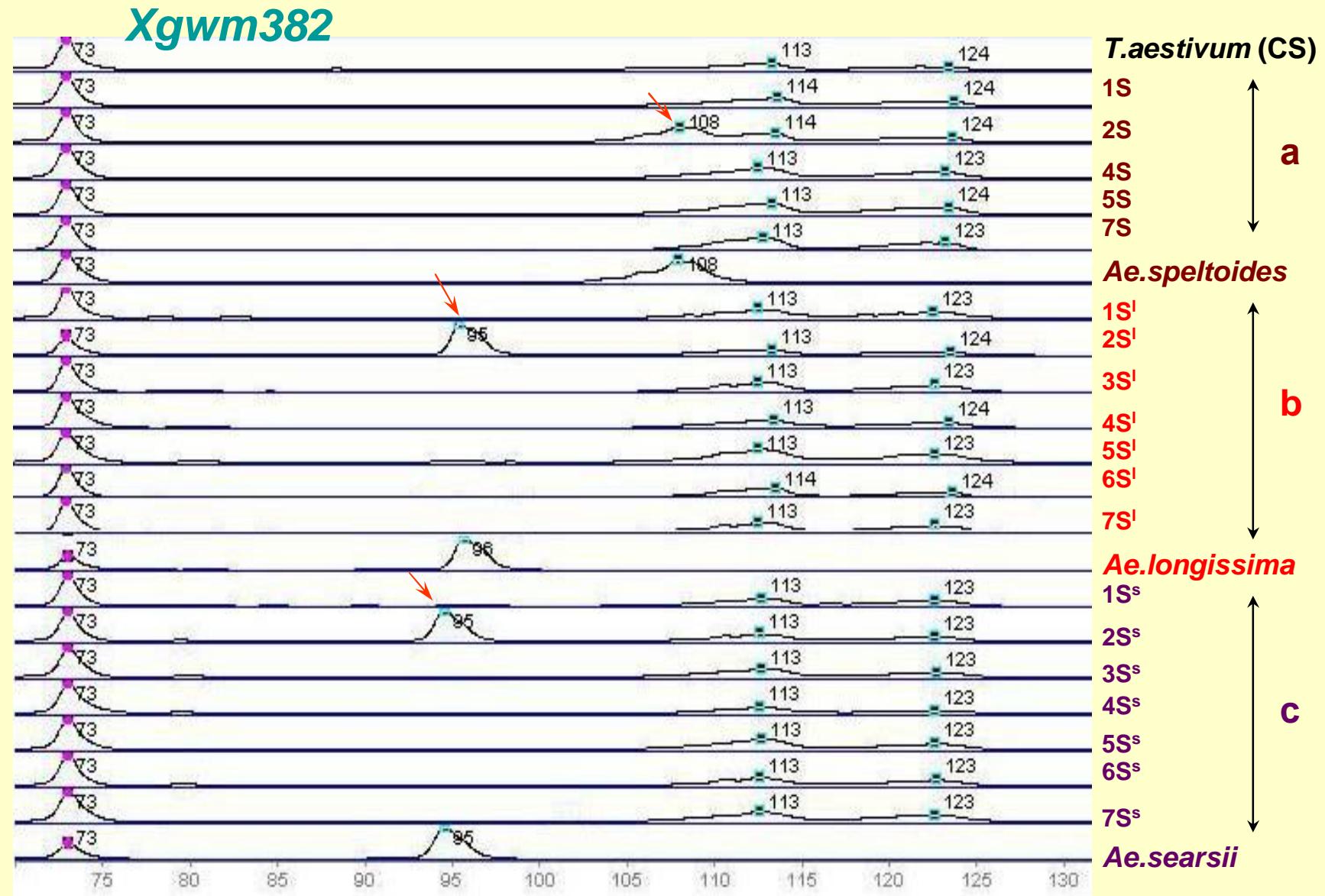
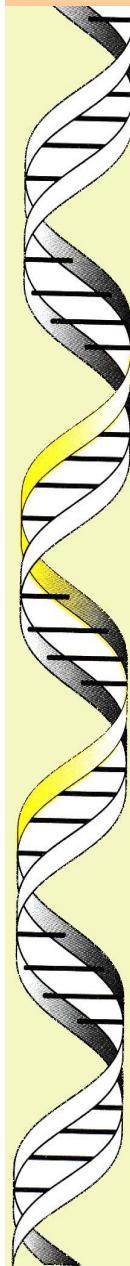
Donors of
B genome

T. aestivum
 $2n=6x=42$
BBAAADD



Potential donors of several
agriculturally valuable traits
(resistance to fungal diseases and
high protein content in grain)

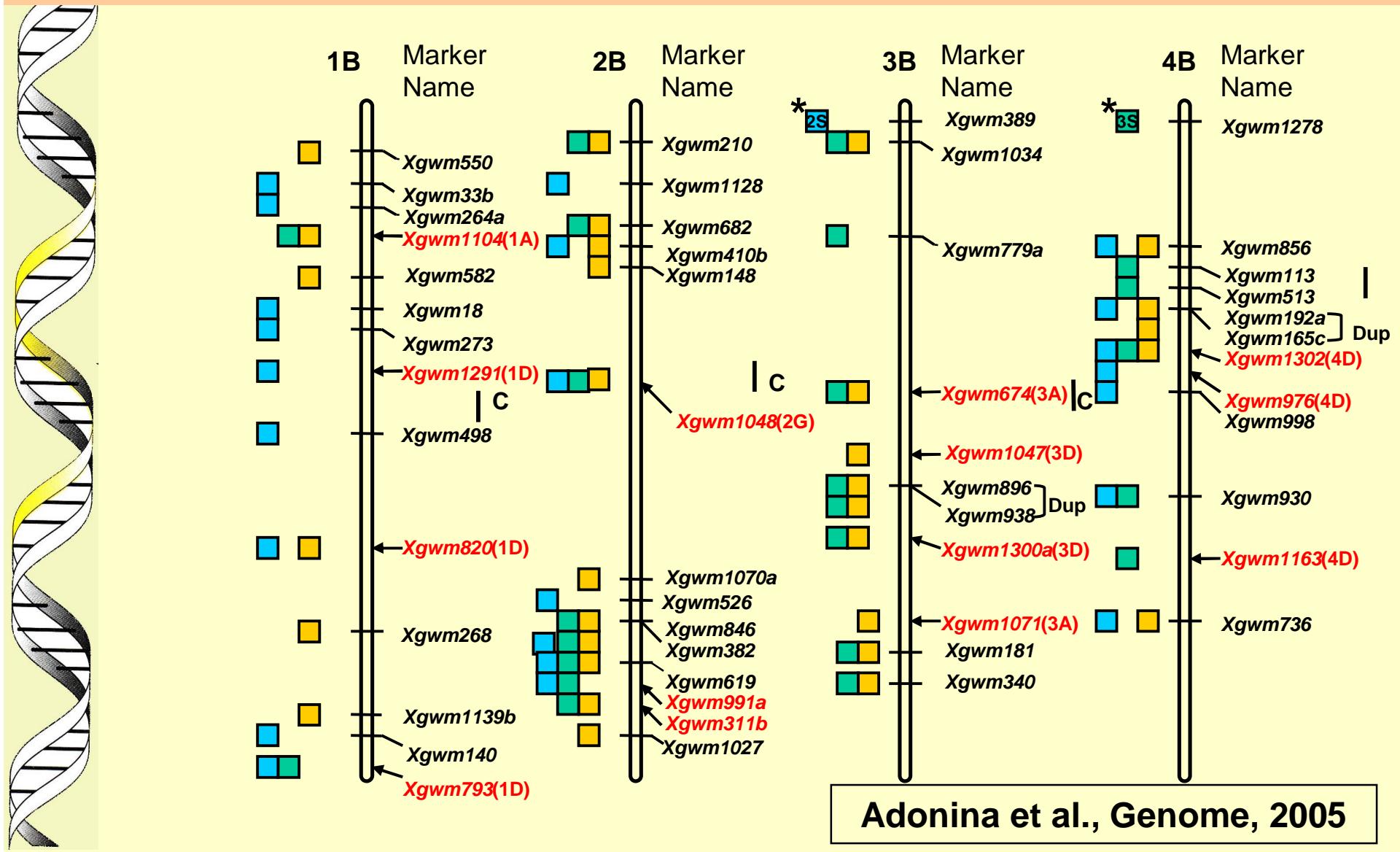
The use of *T. aestivum* - *Aegilops* addition lines (a-c) for the localization of wheat SSR markers on *Aegilops* chromosome.

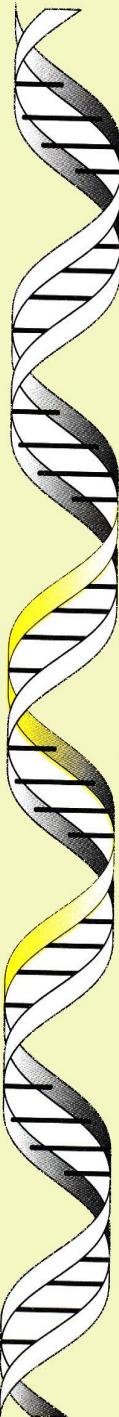


Seeds provided by prof. B. Friebe.

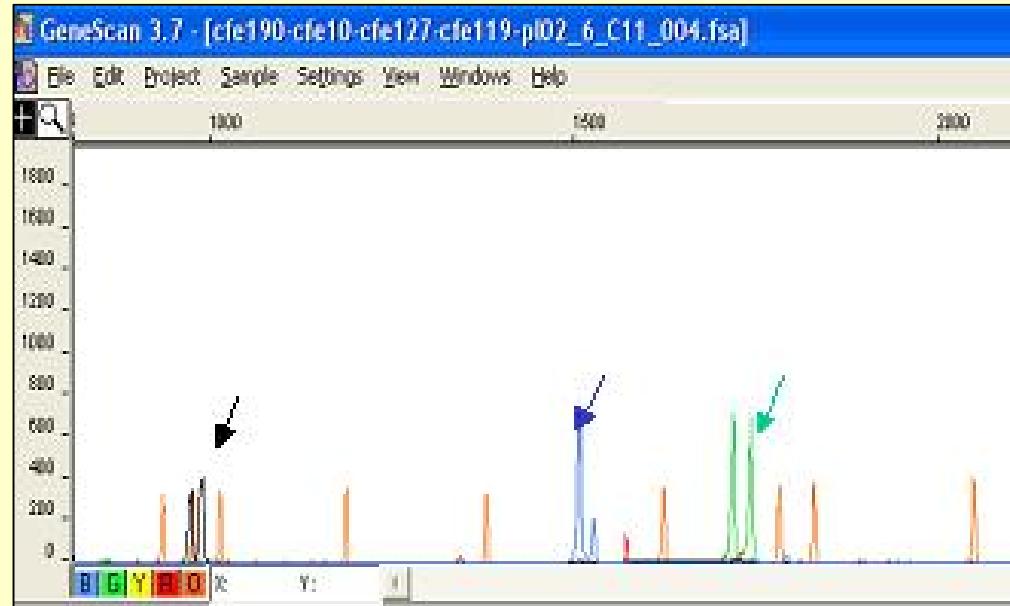
Adonina et al., Genome, 2005

Schematic consensus map of the B genome of *T. aestivum*.
 SSR markers with determinated localization in the genome of
Aegilops species are depicted (■ Ae. speltoides,
 ■ Ae. longissima, ■ Ae. searsii)



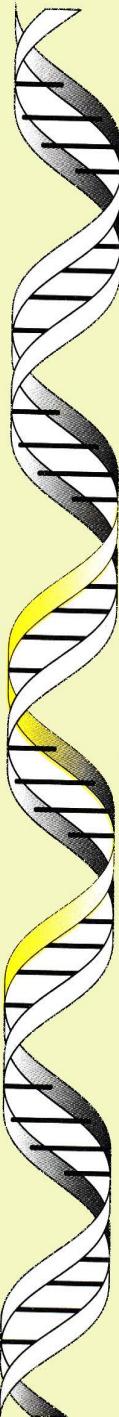


SSR-based genetic mapping of the *Ae. speltoides* genome



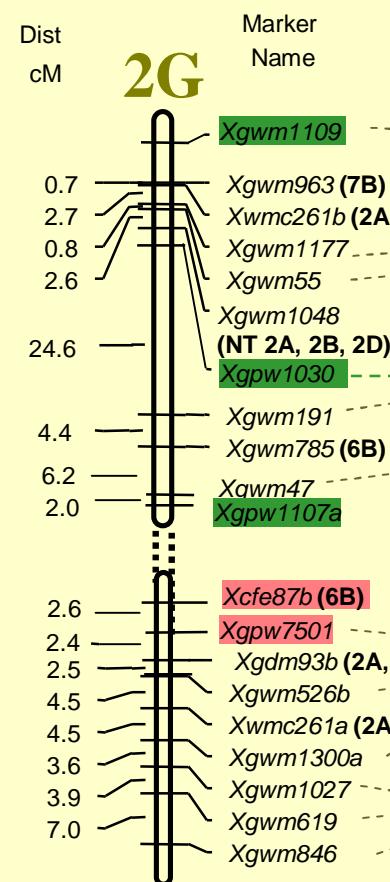
	Genomic SSR markers		EST-SSR markers	Total
	<i>Ae. speltoides</i>	<i>T. aestivum</i>		
Used	254	185	318	757
Amplified in <i>Ae. speltoides</i>	221 (87.0%)	116 (62.7%)	93 EST-GPWs (81.6%); 162 CFEs (90.5%); 20 KSUMs, CNLs (80.0%)	612
Polymorphic	173 (78.0%)	54 (46.5%)	157 (57.0%)	384

IC&G, Novosibirsk, Russia; UMR INRA-UBP, Clermont-Ferrand, France

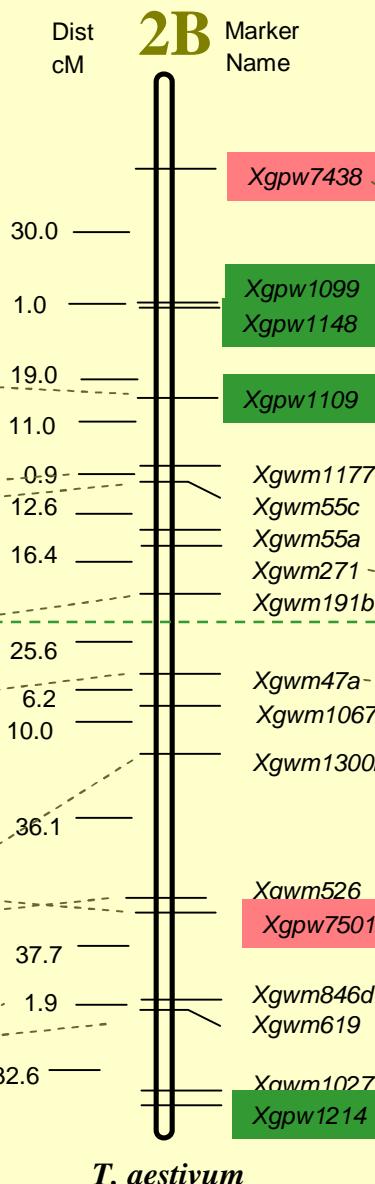


Map-based comparative analysis of the S, G, and B genomes of Triticeae species.

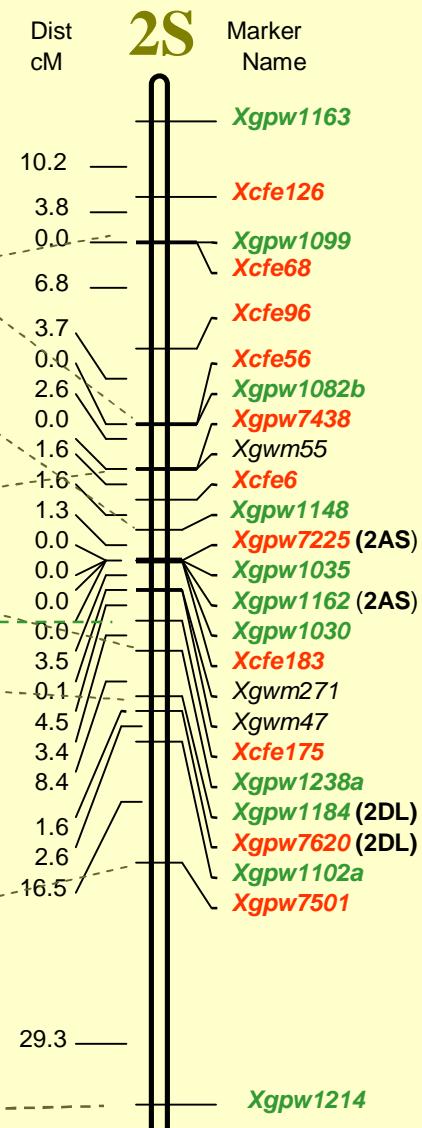
**IC&G, Russia; UMR
INRA-UBP, France**



T. timopheevii

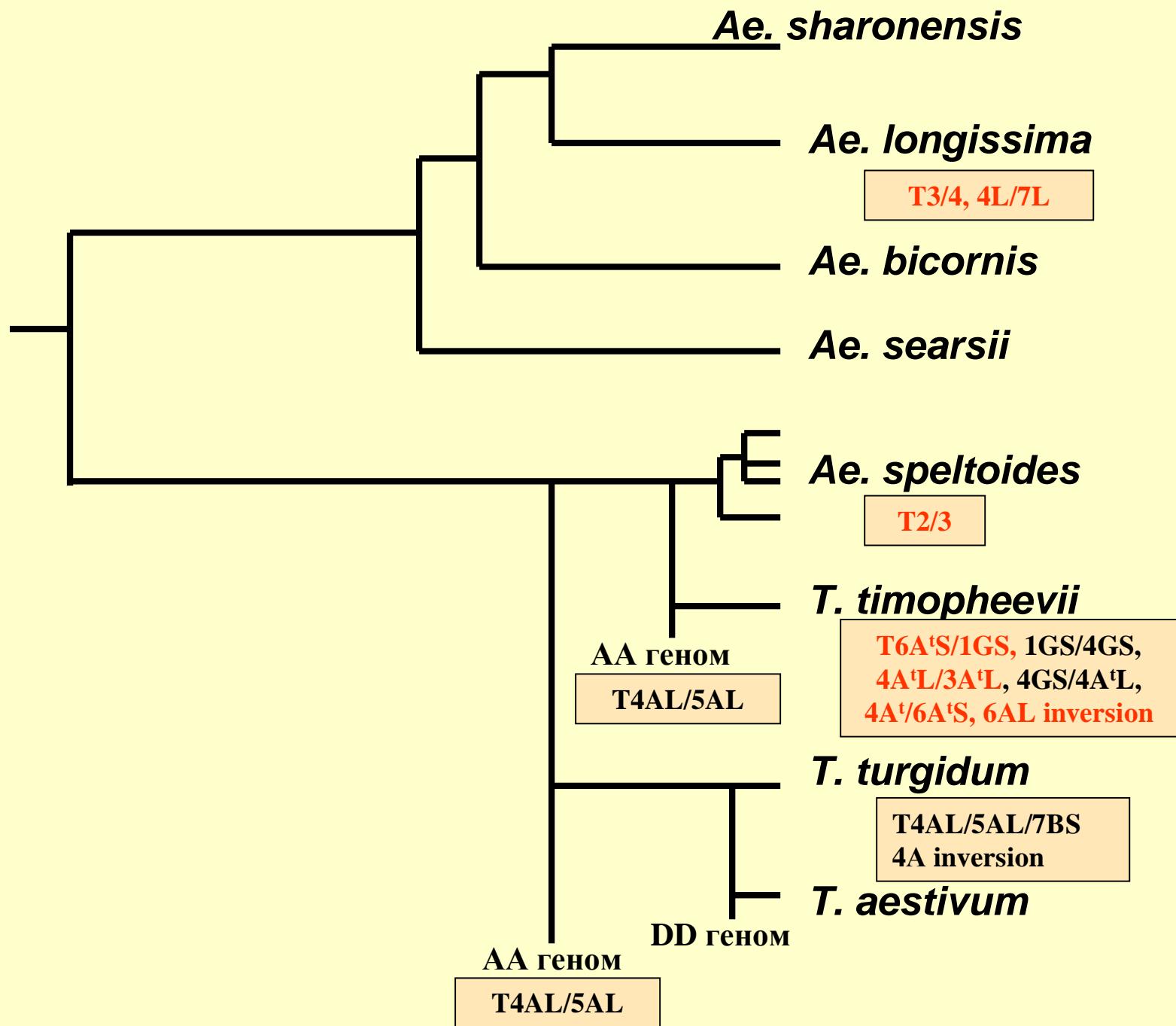
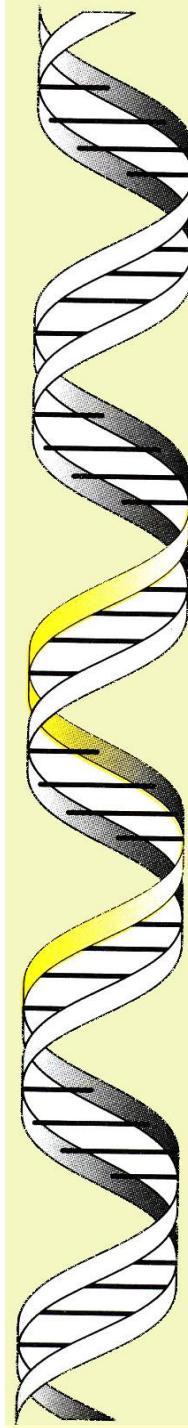


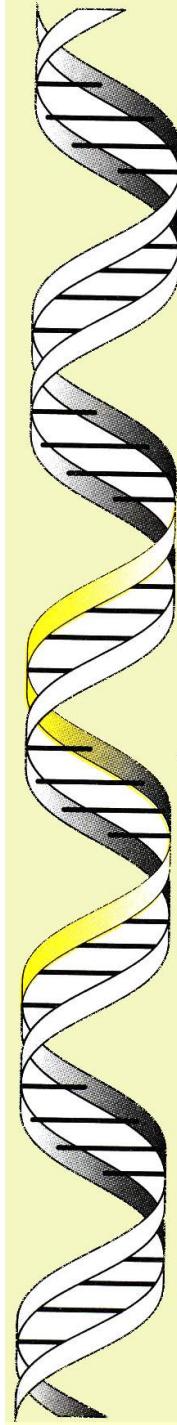
T. aestivum



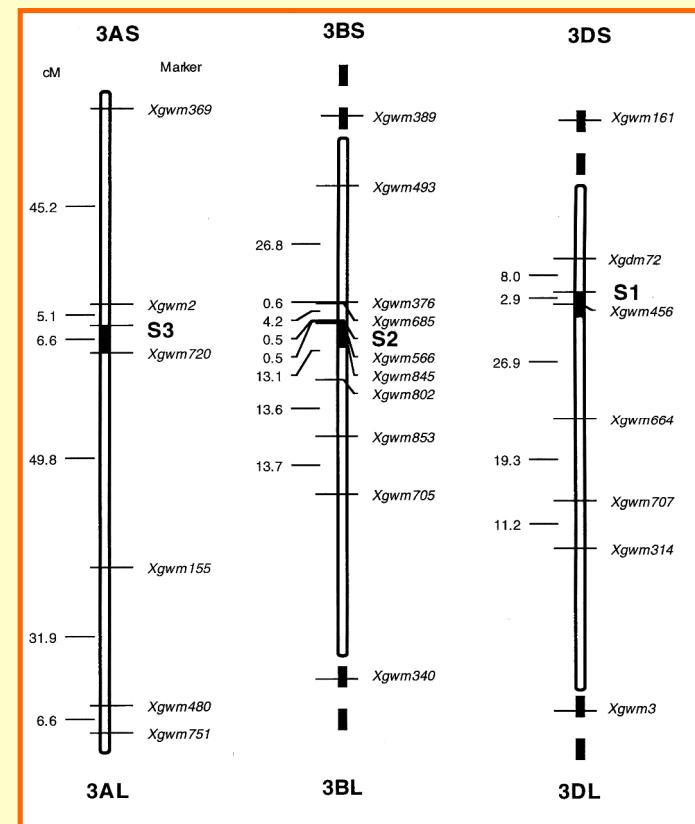
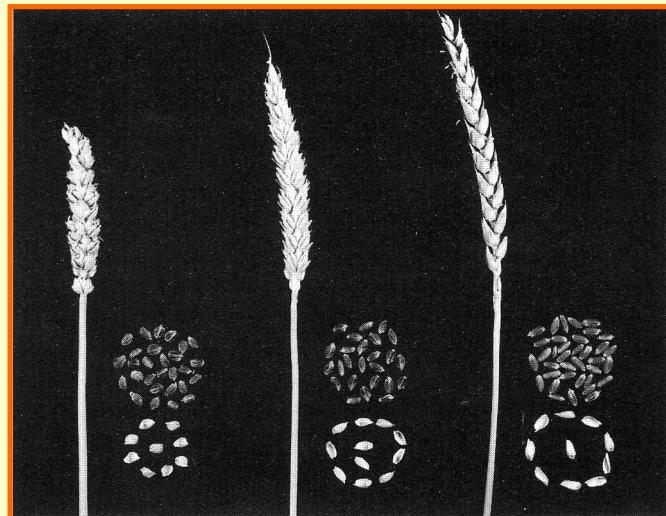
Ae. speltoides

■ - геномные SSR-маркеры *Ae. speltoides*; ■ - EST- SSR-маркеры *T.aestivum*





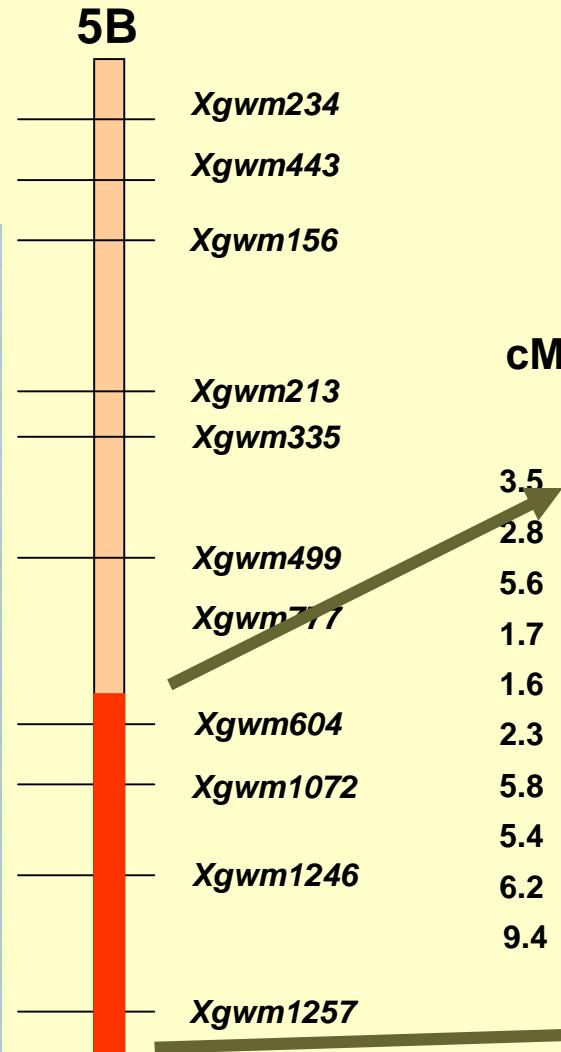
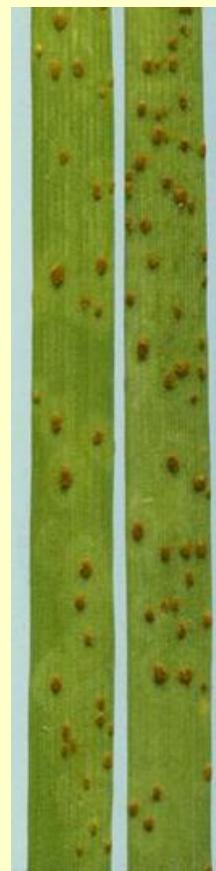
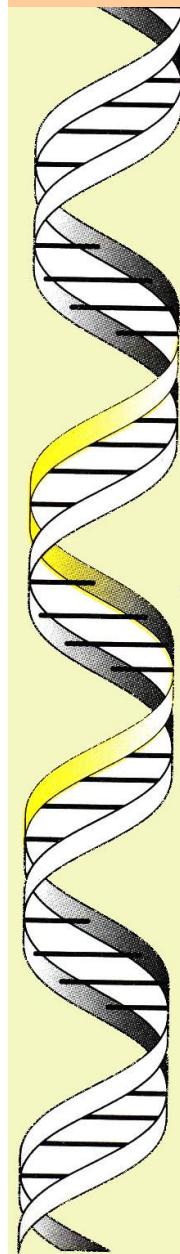
Молекулярно-генетическое картирование сферококкоидных генов пшеницы



S1 – MS3287 x H67; S2 – MSK2454 x H67; S3 – MS1453 x H67

Salina et al., Theor. Appl. Genet.,
2000

SSR mapping of the leaf rust resistance gene (*Lr*) introgressed into common wheat from *T. timopheevii*.



cM

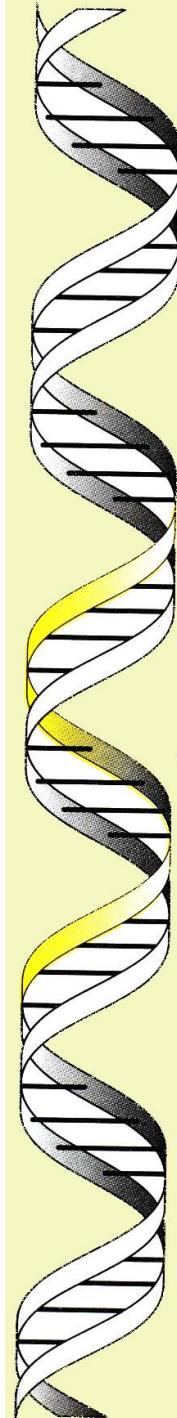
3.5
2.8
5.6
1.7
1.6
2.3
5.8
5.4
6.2
9.4

Genes	Chromosome
<i>LrTt1</i>	2A
<i>LrTt2</i>	5B
<i>LrTt3</i>	2B

Marker

Xgwm777
Xgwm604
Xgwm408
Xgwm1072
Xgwm1016
Xgwm814
Xgwm1246
Xgwm497
Xgwm880
LrTt2
Xgwm1257

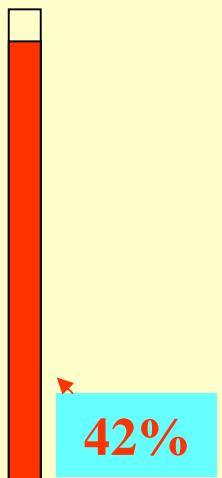
Leonova et al., Plant Breeding,
2004; Leonova et al., Euphytica,
2007; Leonova et al.,



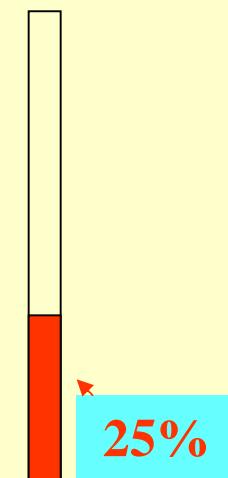
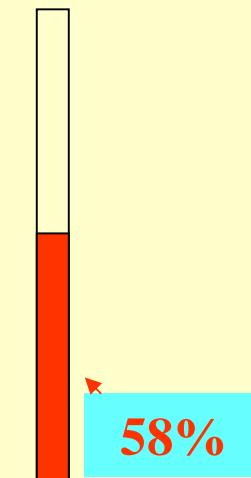
SSR-анализ беккроссных потомков.

	Бз1	C29/M80 8 5А	(Бз1х C29/M80)
<i>Xgwm 234</i>	234	243	243
<i>Xgwm 544</i>	173	167	167
<i>Xgwm 540</i>	144	140	140
<i>Xgwm 213</i>	157	171	171
<i>Xgwm 843</i>	98	102	98
<i>Xgwm 371</i>	173	171	173
<i>Xgwm 499</i>	106	133	106
<i>Xgwm 777</i>	111	113	111
<i>Xgwm 408</i>	177	175	175
яровость	<i>vrn-B1</i>	<i>Vrn- B1</i>	<i>Vrn- B1</i>
<i>Xgwm 604</i>	140	125	125
<i>Xgwm 1016</i>	144	150	150

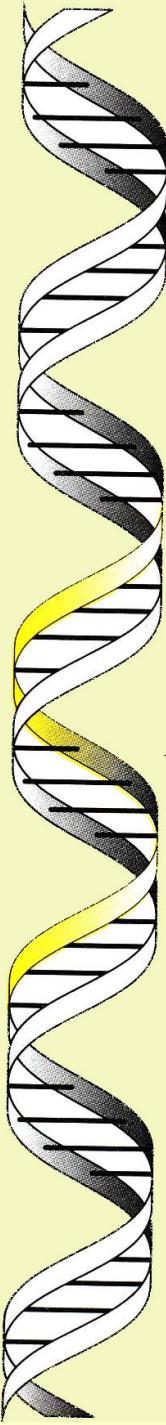
BC₁ – 12 растений



BC₃ – 8 растений



Материал предоставлен Ефремовой Т.Т.

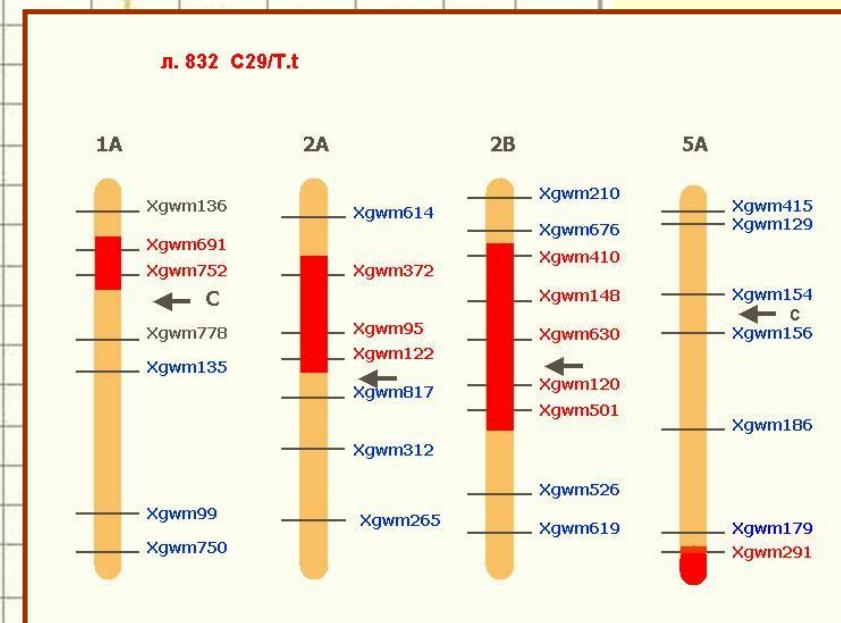


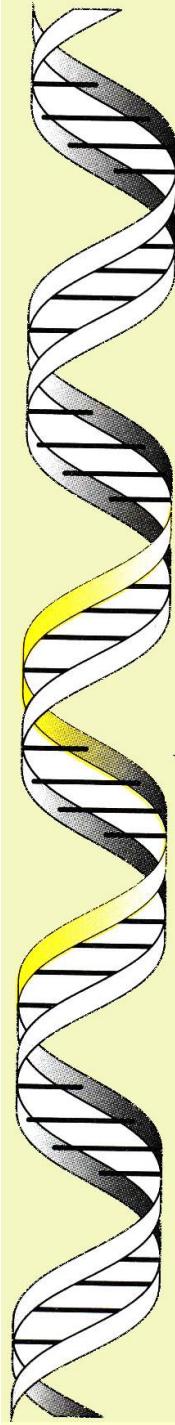
Межсортовое замещение хромосом пшеницы (A геном)

Chr. Lines	1A	2A	3A	4A	5A	6A	7A
S29/ YP	*	*		*	*	*	
CS/ Synt.	*		*		*	*	
Cap/ Bez	*	*		*	*		*

Генотипирование *T. aestivum* x *T. timopheevii* интрогрессивных линий

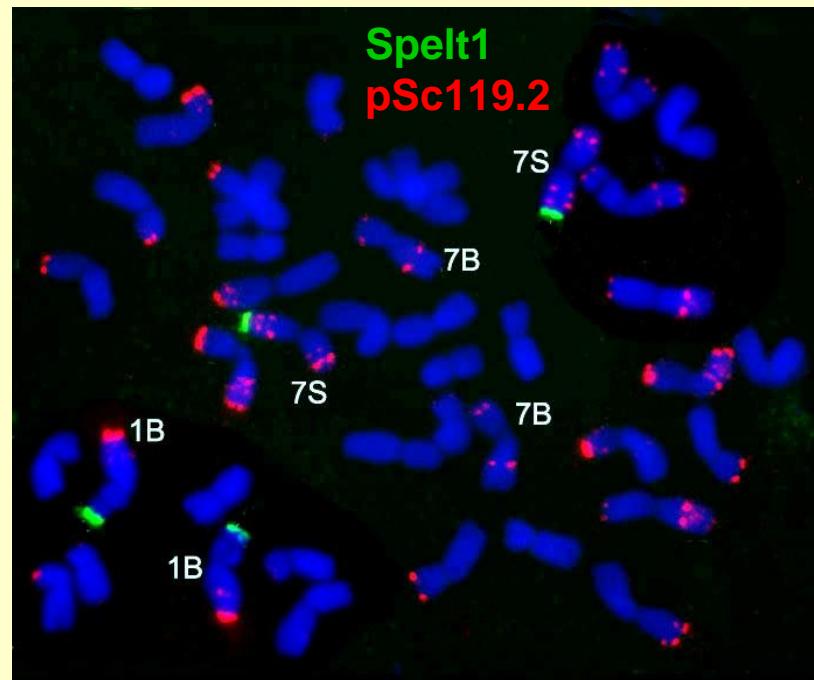
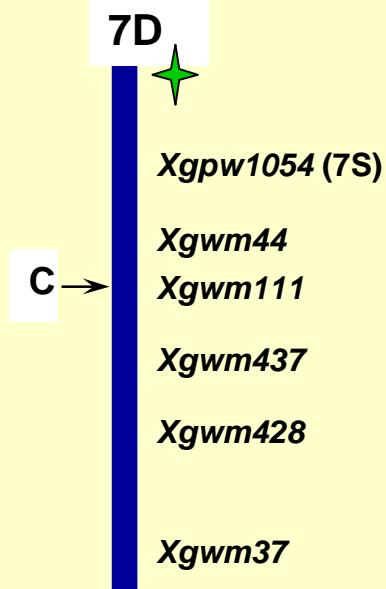
Сорт	Линия	1	2	3	4	5	6	7
C29	744	L	-	L	-	-	L	-
	760	-	S	-	LS	-	L	-
	811	-	-	S	L	-	S	-
	821	-	-	LS	LS	-	-	-
	832	S	L	S	LS	L	-	-
	837	-	-	LS	LS	-	-	-
	842	-	-	LS	LS	-	-	-
Скала	141	L	S	-	LS	-	-	L
	157	LS	S	LS	LS	-	-	L
	175	LS	S	L	LS	-	-	L
	184	S	S	L	LS	-	-	L
Иртышанка	10	-	LS	-	LS	-	-	-
	38	LS	-	-	LS	S	-	-
	67	-	S	LS	-	-	-	-
	94	LS	-	LS	-	L	-	-
	140	-	S	LS	-	S	-	-
Целинная	191	-	-	S	S	-	-	-
	206	L	-	-	LS	-	-	-
	208	-	-	S	LS	-	-	-
	212	L	-	-	-	-	-	-
Н67	676	L	S	-	S	-	-	L
	699	-	S	S	-	-	-	S
	728	L	-	S	S	-	-	L
	732	-	-	-	LS	-	-	S



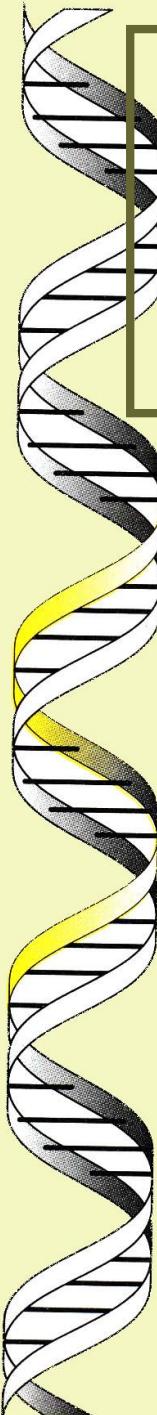


SSR анализ *T. aestivum* x *Ae. speltoides* интrogессивных линий

Линия 592



Линии предоставлены Лапочкиной И.Ф., Пшеничниковой Т.Т.



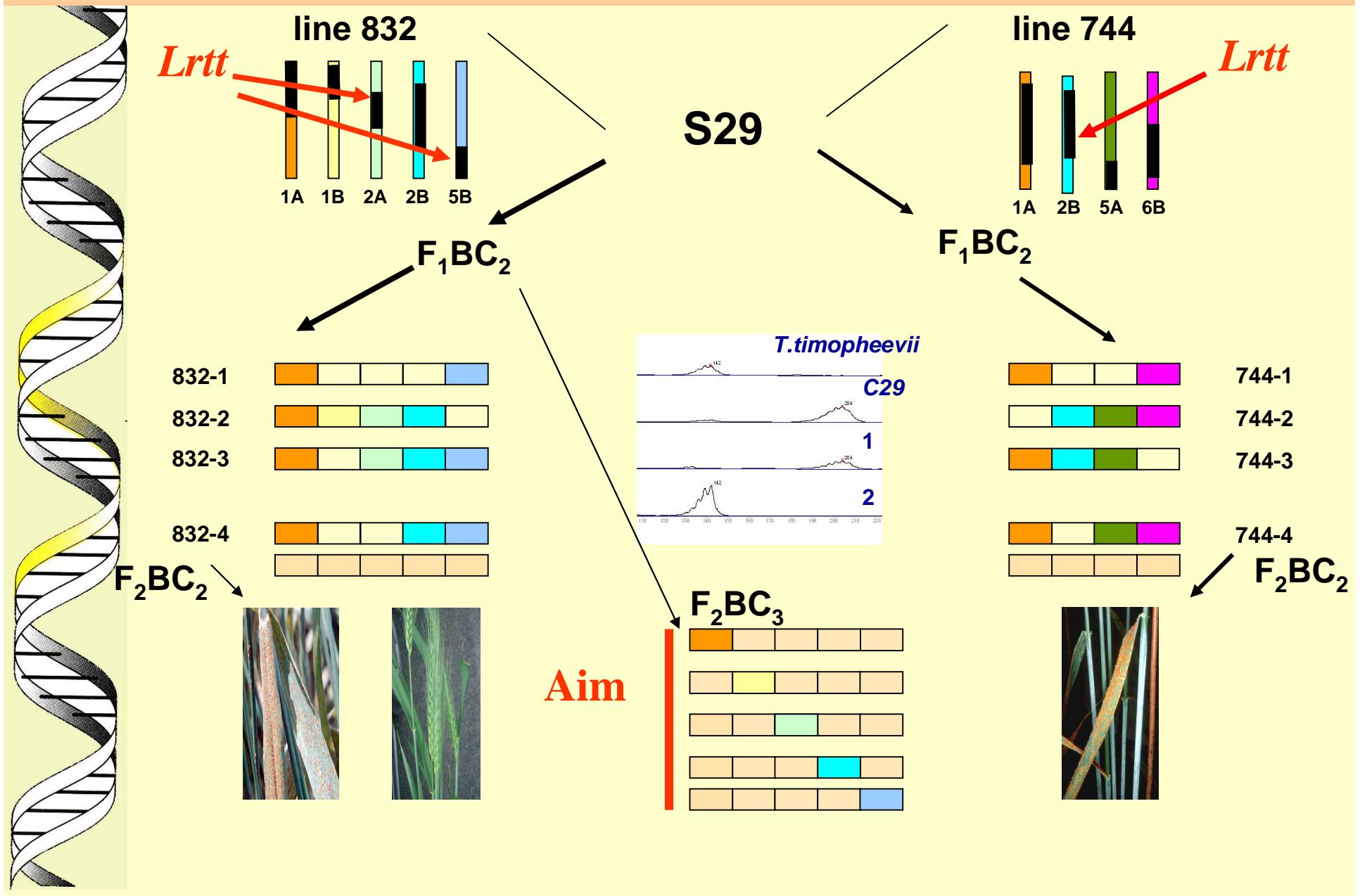
Образец микросателлитного (SSR) паспорта, разработанный для сортов мягкой пшеницы. Аллели SSR-локусов, встречающиеся у различных сортов *T. aestivum* (Khlestkina et al. 2004), обозначены порядковыми номерами от 1 до 12, длина аллелей приведена в п.н.. SSR-аллели, характерные для сорта Chinese Spring выделены черным цветом, а для Саратовская 29 – красным цветом.

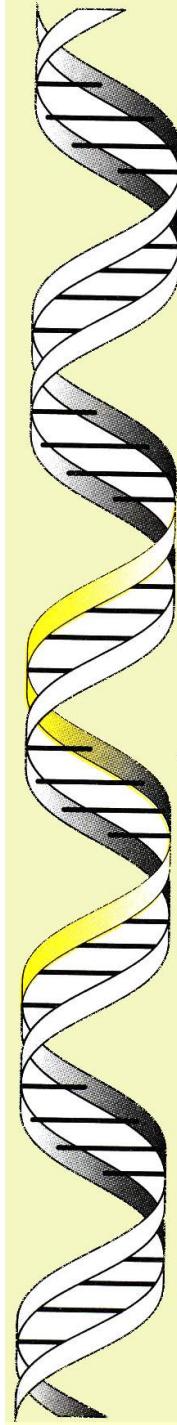
Слева указан номер SSR маркера и его локализация на хромосоме.

* обозначены аллели, имеющие одинаковую длину у данных сортов пшеницы

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>Xgwm357-1A</i>	119	121*	123									
<i>Xgwm095-2A</i>	116	118	120	122	124	126						
<i>Xgwm155-3A</i>	129	141	143	145	147	149						
<i>Xgwm186-5A</i>	100	122	124	126	128	130	134	136	138	140		
<i>Xgwm631-7A</i>	190	192	194	200	202	208						
<i>Xgwm018-1B</i>	184	186	188	190	196	206						
<i>XTaglgap-1B</i>	211	214	217	235	238	250	253	280				
<i>Xgwm619-2B</i>	0	135	137	141	147	149	151	171	173			
<i>Xgwm533-3B</i>	0	95	105	117	127	129	131	135	141	143	145	159
<i>Xgwm389-3B</i>	0	116	118	120	128	132*	134	136	138	140		
<i>Xgwm165-4B</i>	248	252	254	256	258	260	262	264				
<i>Xgwm513-4B</i>	141	143	145	147								
<i>Xgwm408-5B</i>	147	171	175	177	179	181						
<i>Xgwm680-6B</i>	111	123	125	129	135							
<i>Xgwm577-7B</i>	0	128*	130	136	152	160	162	164	166	168	170	218
<i>Xgwm046-7B</i>	163	171	173	175	177	179	181	187				
<i>Xgwm458-1D</i>	109	111	113	115								
<i>Xgwm261-2D</i>	161	171	185	189	193	197	215					
<i>Xgwm003-3D</i>	71	77	79	81	83							
<i>Xgwm165-4D</i>	195	197	199	201	203							
<i>Xgwm190-5D</i>	202	204	208	210	212	214						
<i>Xgwm325-6D</i>	134	136	138	140	142	144	146	148	150			
<i>Xgwm437-7D</i>	91	101	103	105	107	109	113	115	117			

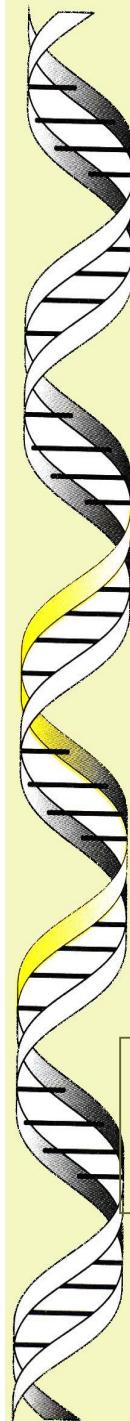
MAS in development of *T. aestivum* x *T. timopheevii* monoinsertion lines



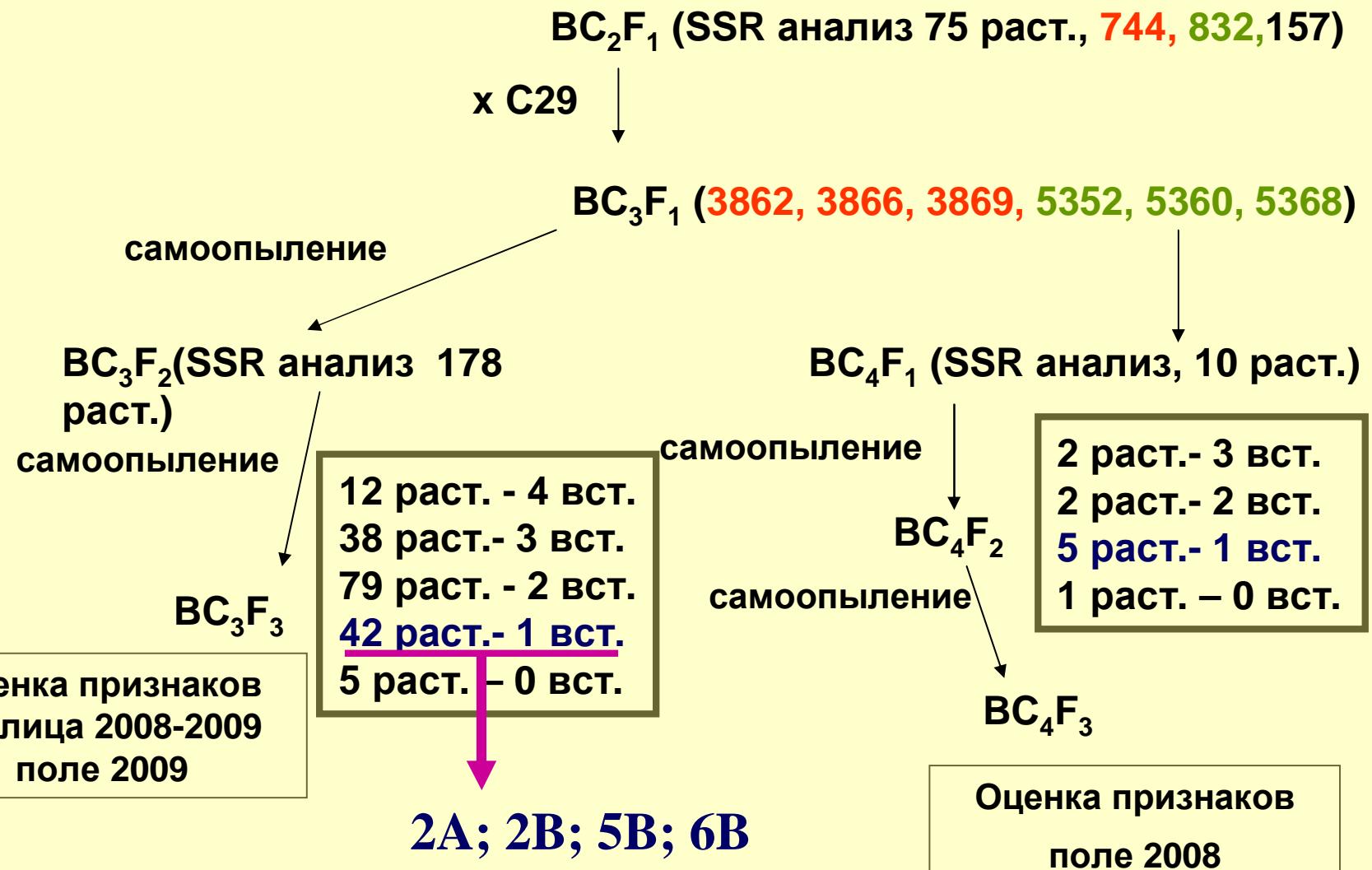


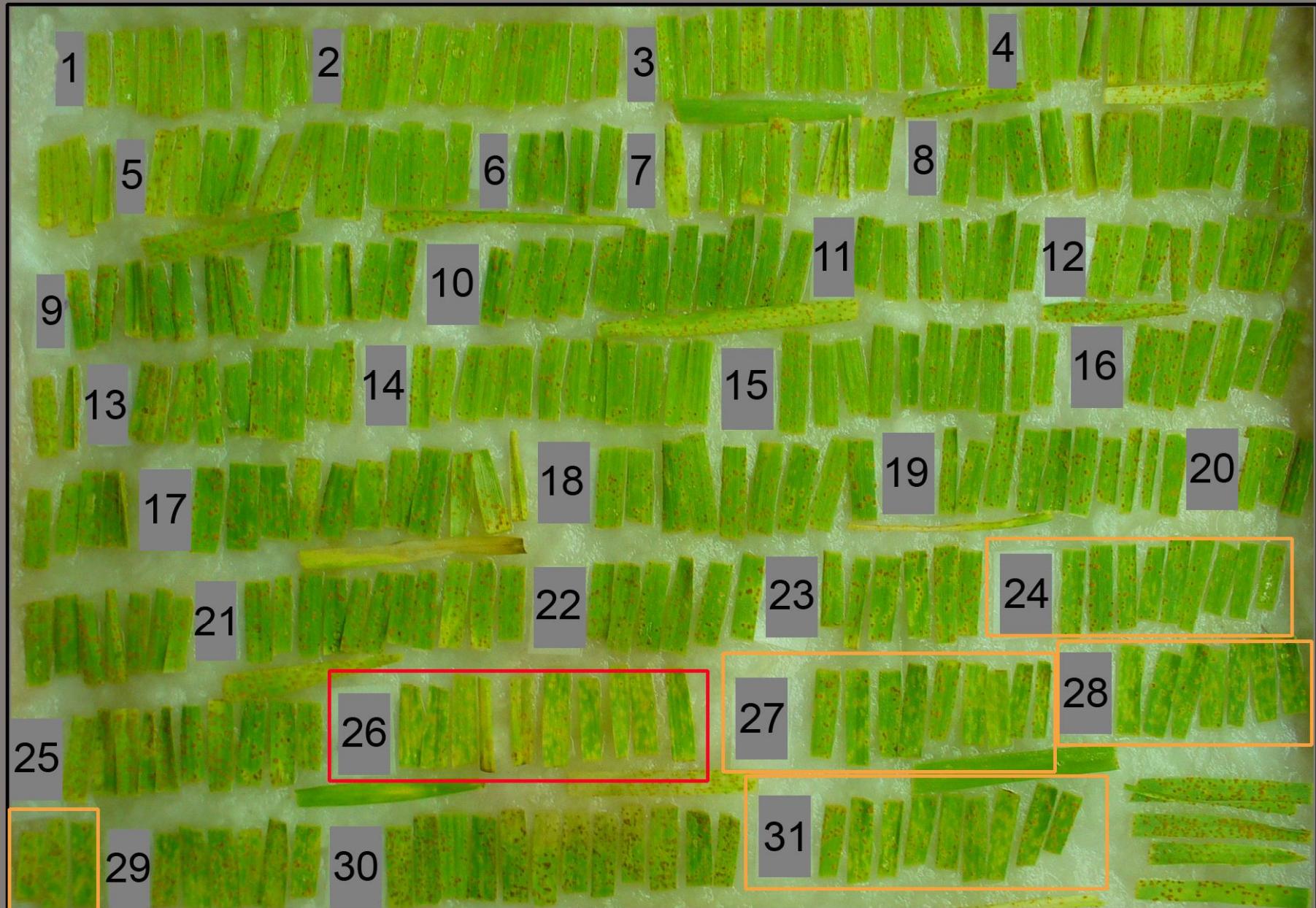
Микросателлитные маркеры, выбранные для генотипирования интрагрессивных линий методом фрагментного анализа

Хромосома	Маркер	
	потомки 744 линии	потомки 832 линии
1A	Xgpw7072, Xgpw7258, Xgwm750	Xgwm691, Xgwm750
1B	Xgwm18, Xgwm818, Xgpw7258	Xgwm18
2A	Xgwm726, Xgwm312, Xgpw7501	Xgwm726, Xgwm312, Xgwm95, Xgpw7501
2B	Xgpw1109, Xgwm120, Xgpw7501	Xgpw1109, Xgwm120, Xgwm630, Xgpw7501
5B	Xgwm814	Xgwm814, cfe204
6B	Xgwm361, Xgwm626	-
Σ	13	12

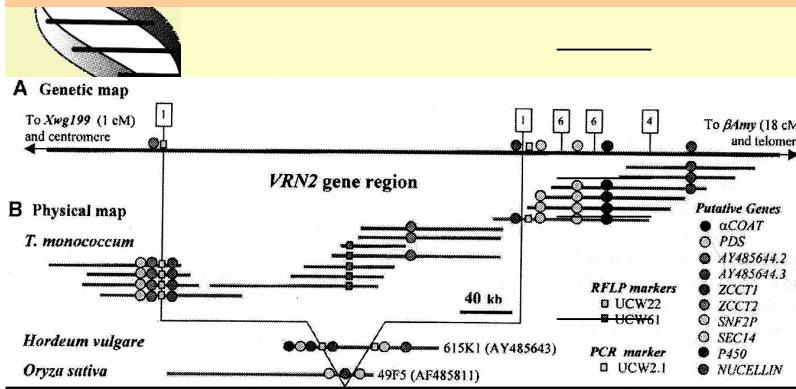


MAS для получения линий с единичными фрагментами интрогрессий *T. timopheevii*

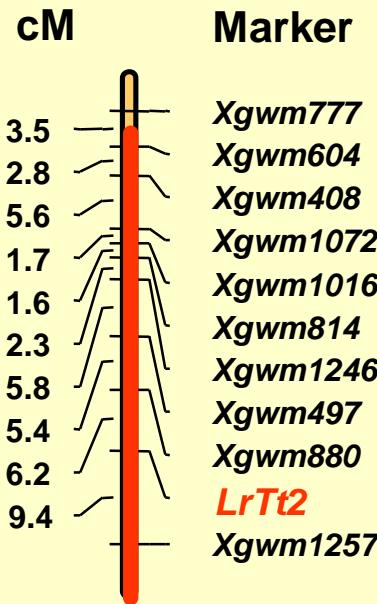




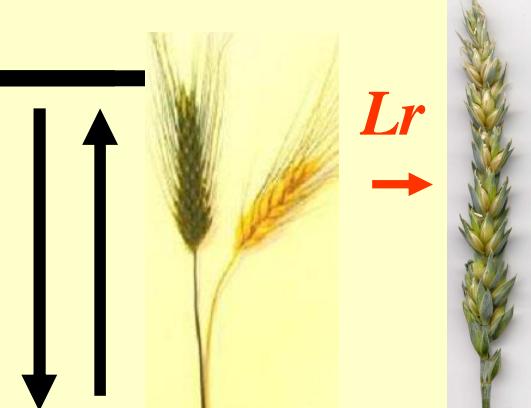
Comparative genomics for plant breeding



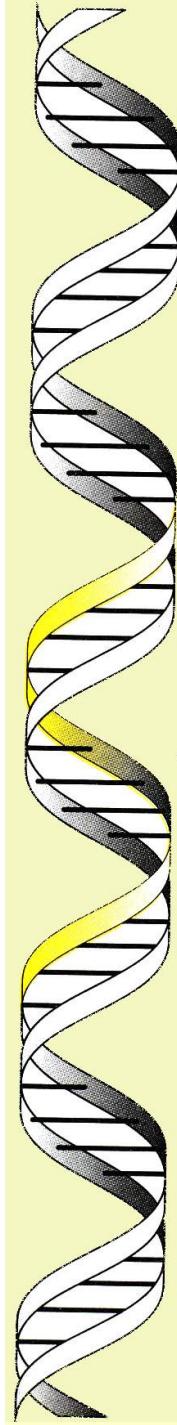
Genomics:
Chromosome
specific BAC clones
Physical mapping
Sequencing



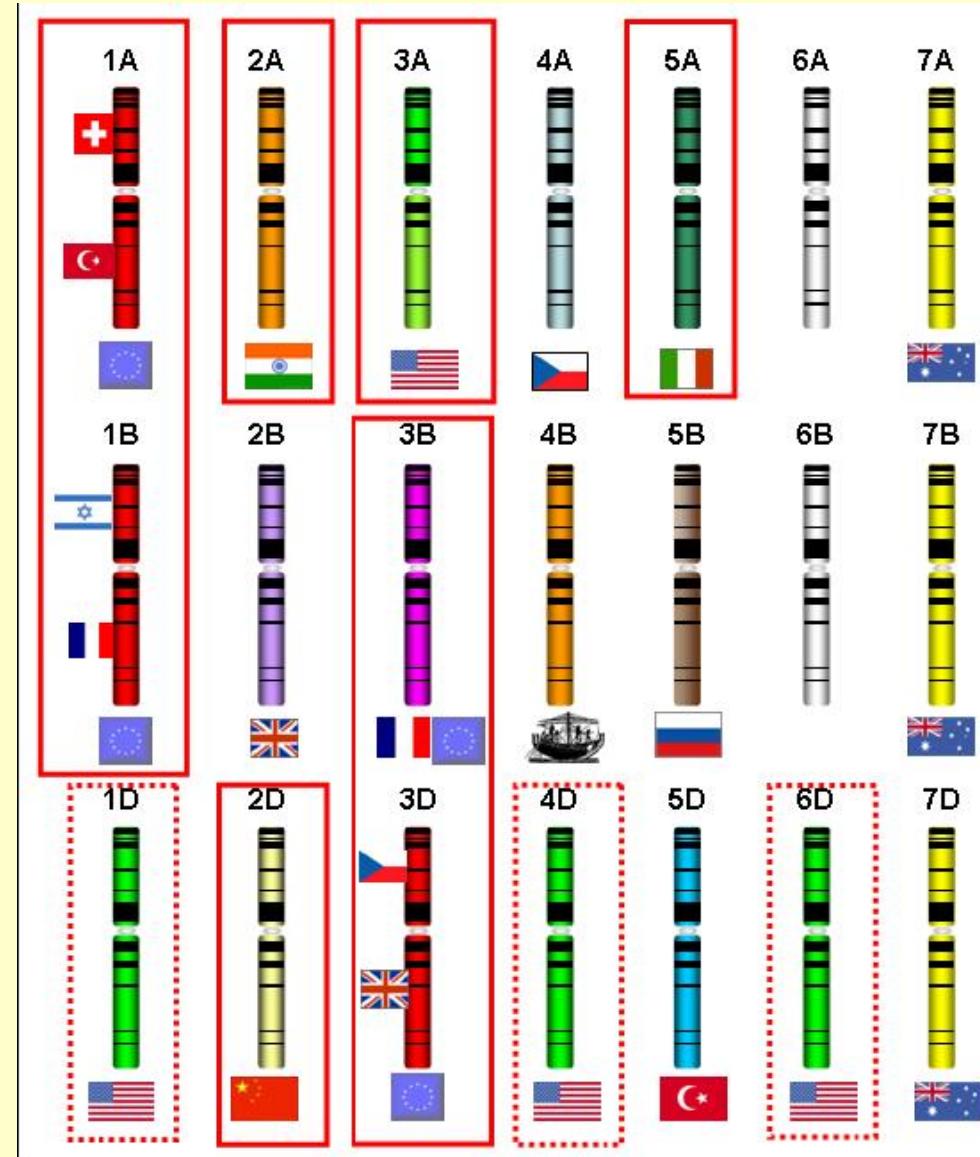
Gene and genome mapping
Identification trait-genes –markers

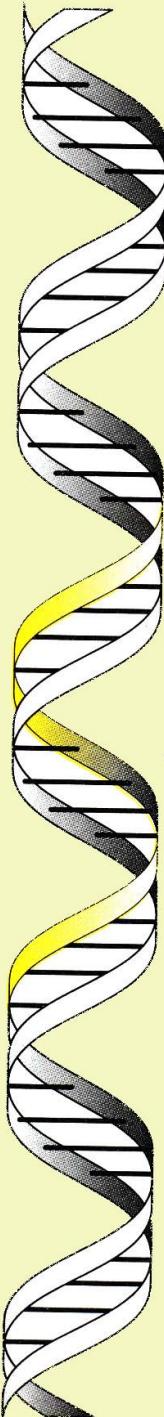


“Molecular” plant breeding



Консорциум по секвенированию генома мягкой пшеницы (построение физической карты хромосом)





Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk, Russia
*Salina EA, Adonina IG, Leonova IN, Khlestkina EK, Dobrovolskaya OB,
Egorova EM, Efremova TT, Laikova L.I., Budashkina EB, Arbuzova VS*

**Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung
(IPK), Germany - Roeder M. , Boerner A.**

Mixed Unit of Research Improvement and Health of Plants, (UMR-ASP), INRA, Clermont-Ferrand, France – M. Bernard, J. Salse

Acknowledgements:

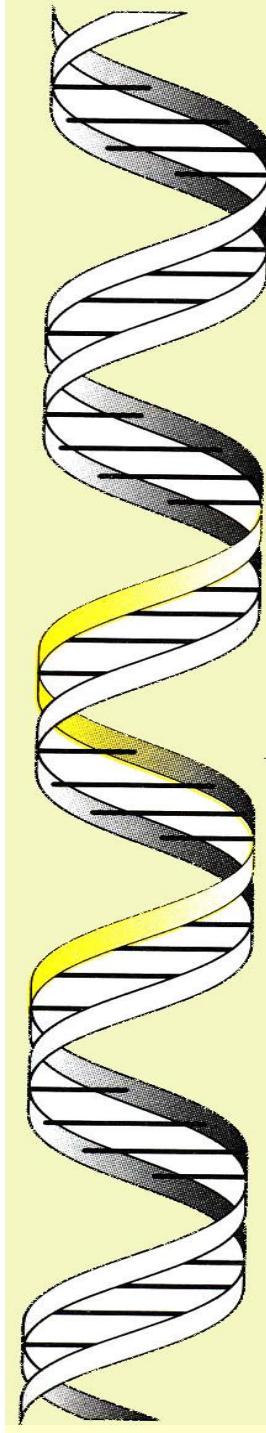
This work was supported by

INTAS (grant nos. 01-0537; YS 04-83-3786; YS 04-83-3958),

Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft

Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG)

Russian Foundation of Basic Research (RFBR)



Спасибо за внимание