

Генетика устойчивости пшеницы к листовой ржавчине

УДК 633.11:631.527:632.4:577.2

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОМЕЖУТОЧНЫХ ПШЕНИЧНО-ПЫРЕЙНЫХ ГИБРИДОВ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К ЛИСТОВОЙ РЖАВЧИНЕ*

П.Ю. КРУПИН¹, М.Г. ДИВАШУК¹, В.И. БЕЛОВ², А.И. ЖЕМЧУЖИНА³,
Е.Д. КОВАЛЕНКО³, В.П. УПЕЛНИЕК^{2, 4}, Г.И. КАРЛОВ¹

Проведена оценка 18 образцов октаплоидных озимых пшенично-пырейных гибридов (ППГ) ($2n = 56$) на ювенильную устойчивость к 10 тест-изолятам листовой ржавчины. С помощью молекулярных маркеров показано наличие различных субгеномов пырея (*Thinopyrum* sp.) в исследуемых образцах. У образцов ППГ выявлен полиморфизм по устойчивости к тест-изолятам листовой ржавчины, который может быть обусловлен различными наборами пырейных хромосом в геноме. Обсуждается возможность использования изученных ППГ в селекции на устойчивость к листовой ржавчине и роль устойчивости в улучшении хозяйственно-ценных признаков ППГ в селекционном процессе.

Ключевые слова: пшеница, пшенично-пырейные гибриды, листовая ржавчина, гены устойчивости.

Keywords: wheat, wheat-*Thinopyrum* hybrids, leaf rust, resistance genes.

Листовая (бурая) ржавчина (возбудитель *Puccinia triticina* Eriks.) — заболевание пшеницы, причиняющее серьезный ущерб ее посевам, особенно в южных регионах России. При поражении урожай может снижаться более чем на 50 % (1). В настоящее время выявлено свыше 50 генов устойчивости к листовой ржавчине (2), на многие из которых разработаны молекулярные маркеры (3). Источниками таких генов часто служат дикорастущие сородичи пшеницы. В частности, гены *Lr24*, *Lr29* и *Lr19* пырея понтийского (*Thinopyrum ponticum*, геномная конституция JJJ^sJ^s, $2n = 70$) и ген *Lr38* пырея среднего (*Th. intermedium*, геномная конституция JSJ^s, $2n = 42$), перенесенные в пшеницу посредством межродовой гибридизации, обеспечивают ее устойчивость к широкому спектру рас бурой ржавчины (4). Возникновение и распространение новых рас в разных странах приводит к потере устойчивости, обусловленной этими генами (5-7). Поиск новых генов, определяющих как полную, так и частичную устойчивость пшеницы к листовой ржавчине, поможет создать пирамидальную систему устойчивости сортов. Кроме того, введение в коммерческие сорта пшеницы новых генов с помощью отдаленной гибридизации позволит сдерживать коэволюцию хозяина и паразита.

Большим потенциалом в качестве источника новых генов устойчивости обладает коллекция пшенично-пырейных гибридов (ППГ), созданных в Отделе отдаленной гибридизации Государственного ботанического сада им. Н.В. Цицина РАН при скрещивании пшеницы (как мягкой, так и твердой) с разными видами пырея (в том числе с пыреем средним и понтийским). Известно, что у этих линий в разной степени проявляется многолетний образ жизни, способность к отрастанию после скашивания, они имеют длинный рыхлый колос, характерный для многолетней пшеницы. Ранее нами было показано, что такие формы — октаплоиды ($2n = 56$) (8).

* Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках выполнения ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007-2013 годы» ГК № 14.518.11.7043.

К важным этапам создания устойчивых форм пшеницы относится их иммунологическая оценка (9). Фитопатологический анализ указанных форм ППГ не проводился, и об их относительной устойчивости известно только из полевых наблюдений, результаты которых сильно подвержены влиянию внешней среды (10).

Целью нашей работы был скрининг коллекции озимых пшенично-пырейных гибридов на наличие пырейного генома и устойчивость к листовой ржавчине.

Методика. Объектом исследования служили образцы озимых ППГ Истра 1, Зернокормовая 169, Останкинская, Отрастающая 38, №№ 12, 33, 77, 90, 116, 186, 548, 1405, 1670, 2087, 4015, 4044, 4082, 5542 (Отдел отдаленной гибридизации Государственного ботанического сада им. Н.В. Цицина РАН), полученные в результате ступенчатых скрещиваний с участием мягкой и твердой (образцы № 33 и № 90) пшеницы *Triticum aestivum*, пырея среднего и пырея понтийского. При ПЦР-анализе в качестве контроля использовали пырей средний (образец PI 401200, GRIN) и пырей удлиненный (образец PI 547312, GRIN), отрицательным контролем был сорт мягкой пшеницы Chinese Spring.

Для ПЦР-анализа ДНК выделяли СТАВ-методом из этиолированных проростков по методу R. Bernatzky и S.D. Tanksley (11). В качестве маркеров на геном пырея использовали RAPD-маркер OPN01 (12), специфичный для S-субгенома, а также SCAR-маркеры F03 (13) и ple2 (14), специфичные для J-субгенома. Условия амплификации приведены в таблице 1. Полученные фрагменты разделяли в 1,5 % агарозном геле при напряженности поля 6 В/см.

1. Используемые прямые (F) и обратные (R) праймеры, условия ПЦР-амплификации и ожидаемый размер ампликонов для маркеров, специфичных для субгеномов пырея

Пара праймеров/праймер	Режим амплификации
Маркер F03 (ожидаемый размер ампликона — 1270 п.н.)	
F 5'-TGATCACCTGGTTGATAAGTCA-3'	1 цикл — 94 °C 3 мин; 20 циклов — 94 °C 45 с, 58 °C 30 с,
R 5'-AAAGTATTTATTCACSTCAACCGGATCT-3'	72 °C 60 с; 1 цикл — 72 °C 10 мин
Маркер OPN01 (ожидаемый размер ампликона — 817 п.н.)	
5'-CTCACGTTGG-3'	1 цикл — 94 °C 4 мин; 5 циклов — 92 °C 30 с, 35 °C 2 мин,
	72 °C 90 с; 35 циклов — 92 °C 5 с, 40 °C 20 с, 92 °C 90 с;
	1 цикл — 72 °C 5 мин
Маркер ple2 (ожидаемый размер ампликона — 250 п.н.)	
F 5'-ACAATCTGAAAATCTGGACA-3'	1 цикл — 94 °C 4 мин; 28 циклов — 94 °C 60 с, 60 °C 60 с,
R 5'-TCATATTGAGACTCCTATAA-3'	72 °C 2 мин; 1 цикл — 72 °C 10 мин.

При изучении устойчивости к листовой ржавчине 5-суточные проростки инокулировали урединоспорами тест-изолятов, затем на 16–20 ч помещали во влажную камеру, после чего переносили в климатическую камеру PGV-36 («Thermo Fisher Scientific», Австралия) (температура воздуха +20 °C, относительная влажность воздуха 60–70 %, освещенность 10–15 тыс. лк, фотопериод 16 ч) и на 10-е сут учитывали тип реакции у образцов и моногенных линий.

Результаты. Устойчивость к 10 тест-изолятам возбудителя листовой ржавчины *Puccinia triticina* Eriks. (табл. 2) изучили у 16 образцов ППГ.

2. Характеристика тест-изолятов возбудителя листовой ржавчины *Puccinia triticina* Eriks., использованных в работе

Тест-изолят	Набор генов вирулентности	Происхождение тест-изолята (год, регион, сорт)
550-4	1, 2a, 2b, 2c, 3a, 3bg, 11, 14a, 17, 18, 20, 21, 25, 30, 32, 33, 39, 40, B	2005, Нижневолжский, Виктория 95 (озимый)
555-6	1, 2a, 2b, 2c, 3a, 3bg, 3 ka, 10, 14a, 14 b, 17, 18, 23, 25, 26, 27+31, 30, 32, 33, 40, B	2005, Северо-Кавказский, Ростовчанка (озимый)

558-3	1, 2a, 2b, 2c, 3a, 3bg, 3ka, 10, 11, 14a, 14b, 17, 18, 19, 20, 21, 23, 25, 26, 27+31, 30, 32, 33, 39, 40, 44, 46, B	2005, Центральный, Обская 14 (яровой)
681-13	1, 2a, 2b, 2c, 3a, 3bg, 3ka, 10, 14a, 17, 18, 19, 20, 23, 25, 30, 32, 33, 39, 40, B	2008, Западно-Сибирский, Терция (яровой)
687-5	1, 2a, 2b, 2c, 3a, 3bg, 3ka, 10, 14a, 14b, 17, 18, 20, 23, 25, 26, 30, 32, 33, 39, 40, B	2008, Северо-Кавказский, Тритикале (озимый)
689-5	1, 2a, 2b, 2c, 3a, 3bg, 3ka, 10, 11, 14a, 14b, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 23, 25, 26, 27 + 31, 30, 33, 39, 40, B	2008, Северо-Кавказский, Мичиган Амбер (озимый)
693-5	1, 2a, 2b, 2c, 3a, 3bg, 3ka, 10, 11, 14a, 14b, 15, 16, 17, 18, 20, 23, 25, 26, 30, 32, 33, 39, 40, B	2008, Северо-Кавказский, Краснодарская 99 (озимый)
698-1	1, 2a, 2b, 2c, 3a, 3bg, 3ka, 10, 11, 14a, 14b, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 25, 26, 30, 32, 33, 39, 44, B	2008, Центрально-Черноземный, Волжская 100 (озимый)
702-5	1, 2a, 2b, 2c, 3a, 3bg, 3ka, 10, 11, 14a, 14b, 16, 17, 18, 20, 21, 23, 25, 26, 30, 32, 33, 36, 39, 40, B	2008, Центрально-Черноземный, Московская 39 (озимый)
717-2	1, 2a, 2b, 2c, 3a, 3bg, 3ka, 10, 11, 14a, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 23, 25, 26, 27+31, 30, 32, 33, 39, 40, B	2008, Средневолжский, Смуглянка (озимый)

3. Наличие («+») или отсутствие («-») реакции на заражение пшенично-пырейных гибридов тест-изолятами возбудителя листовой ржавчины *Puccinia triticina* Erikss., использованных в работе

Образец, сорт	Тест-изолят									
	558-3	693-5	698-1	687-5	681-13	550-4	555-6	702-5	717-2	689-5
№ 12	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
№ 33	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
№ 77	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
№ 90	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
№ 116	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+
№ 186	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-
№ 548	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
№ 1405	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
№ 1670	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+
№ 2087	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
№ 4015	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
№ 4044	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
№ 4082	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
№ 5542	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-
Останкинская	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-
Истра 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Отрастающая 38	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-
Зернокармальная 169	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-
Chinese Spring	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

По результатам испытания было выделено три группы линий: проявившие иммунитет ко всем тест-изолятам (№№ 77, 90, 548, 1405, 2087, 4015, сорт Истра 1), показавшие восприимчивость к 1-5 тест-изолятам (№№ 116, 186, 1670, 4044, 5542, сорта Останкинская, Зернокармальная 169) и более чем к 5 тест-изолятам (№№ 12, 33, 4082, сорт Отрастающая 38). При этом сорт Chinese Spring, не несущий *Lr*-генов, обеспечивающих ювенильную устойчивость, был тотально восприимчив ко всем тест-изолятам. Патотипы, выделенные в различных регионах Российской Федерации, значительно различаются по спектру вирулентности (15). Линии из первой и второй групп могут быть рекомендованы как источники для поиска новых генов устойчивости к широкому спектру патотипов, распространенных на территории России, образцы из третьей группы — использоваться в селекции на устойчивость лишь локально в соответствии с принадлежностью тест-изолята, к которому линия проявила устойчивость.

Ранее мы показали, что изучаемые образцы несут в геноме 56 хромосом (16). Согласно проведенным исследованиям с использованием методики геномной гибридизации *in situ*, кариотип октаплоидных пшенично-пырейных гибридов содержит 42 хромосомы пшеницы и 14 хромосом пырея (16), хотя возможны и отклонения от этих значений (17).

Для установления субгеномного состава изучаемые образцы ППГ

керы пырейных хромосом для указанных выше четырех сортов, а также дальнейшие молекулярно-цитогенетические и молекулярные исследования, выполненные на остальных линиях пшенично-пырейных гибридов (ППГ), в совокупности с результатами фитопатологической оценки могут быть использованы при картировании генов устойчивости к листовой ржавчине и разработке их молекулярных маркеров. В перспективе применение таких маркеров позволит направленно интрогрессировать новые *Lr*-гены пырея из ППГ в мягкую пшеницу и подобным образом создавать устойчивые линии и сорта.

ЛИТЕРАТУРА

1. McIntosh R.A., Wellings C.R., Park R.F. Wheat rusts: An atlas of resistance genes. Melbourne, Australia: Australian Commonwealth Scientific and Research Organization (CSIRO), 1995.
2. McIntosh R.A. From Farrer to the Australian cereal rust control program. *Austr. J. Agr. Res.*, 2007, 58: 550-557.
3. Тырышкин Л.Г. Наличие ДНК-маркеров как критерий постуляции *Lr*-генов устойчивости пшеницы *Triticum aestivum* L. к листовой ржавчине *Puccinia triticina* Erikss.: критический взгляд. *Сельскохозяйственная биология*, 2010, 3: 76-81.
4. Li H., Wang X. *Thinopyrum ponticum* and *Th. intermedium*: the promising source of resistance to fungal and viral diseases of wheat. *J. Genet. Genomics*, 2009, 36: 557-565.
5. Bhardwaj S.C., Prashar M., Kumar S., Jain S.K., Datta D. *Lr19* resistance in wheat becomes susceptible to *Puccinia triticina* in India. *Plant Dis.*, 2005, 89: 1360.
6. Elyasi-Gomari S., Panteleev V.K. Virulence polymorphism of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* and effectiveness of *Lr* genes for leaf rust resistance of wheat in Ukraine. *Plant Dis.*, 2006, 90: 853-857.
7. Morgounov A., Ablova I., Babayants O., Babayants L., Bepalova L., Khudokormov Zh., Litvinenko N., Shamanin V., Syukov V. Genetic protection of wheat from rusts and development of resistant varieties in Russia and Ukraine. *Euphytica*, 2011, 179: 297-311.
8. Крупин П.Ю., Дивашук М.Г., Белов В.И., Семёнова Е.В., Артамонов В.Д., Карлов Г.И. Влияние отбора на уровень плоидности пшенично-пырейных гибридов. *Естественные и технические науки*, 2011, 6: 123-126.
9. Коваленко Е.Д., Макаров А.А., Жемчужина А.И., Коломиец Т.М., Соломатин Д.А., Киселева М.И. Современная стратегия иммуногенетической защиты зерновых культур от болезней. *Мат. Всерос. совещания «Современные системы защиты растений от болезней и перспективы использования достижений биотехнологии и генной инженерии»*. Голицино, 2003: 52-54.
10. Белов В.И., Иванова Л.П. Улучшение продуктивности октоплоидных промежуточных ППГ. В сб.: *Отдаленная гибридизация. Результаты исследования* /Под ред. В.И. Семёнова. М., 2001: 166-177.
11. Bernatzky R., Tanksley S.D. Toward a saturated linkage map in tomato based on isozymes and random cDNA sequences. *Genetics*, 1986, 112: 887-898.
12. Zhang X., Dong Y., Wang R.R. Characterization of genomes and chromosomes in partial amphiploids of the hybrid *Triticum aestivum* × *Thinopyrum ponticum* by in situ hybridization, isozyme analysis, and RAPD. *Genome*, 1996, 39: 1062-1071.
13. Li H., Wang X. *Thinopyrum ponticum* and *Th. intermedium*: the promising source of resistance to fungal and viral diseases of wheat. *J. Genet. Genomics*, 2009, 36: 557-565.
14. Wang R.R., Wei J.Z. Variations of two repetitive DNA sequences in several *Triticeae* genomes revealed by polymerase chain reaction and sequencing. *Genome*, 1995, 38: 1221-1229.
15. Киселева М.И., Коваленко Е.Д., Жемчужина А.И., Куркова Н.Н. Вирулентность патотипов бурой ржавчины на линиях пшеницы с генами возрастной стойкости. *АГРО XXI*, 2004-2005, 7-12: 25-29.
16. Крупин П.Ю., Дивашук М.Г., Белов В.И., Глухова Л.И., Александров О.С., Карлов Г.И. Сравнительная молекулярно-цитогенетическая характеристика промежуточных пшенично-пырейных гибридов. *Генетика*, 2011, 47: 492-498.
17. Fedak G., Han F. Characterization of derivatives from wheat—*Thinopyrum* wide crosses. *Cytogenet. Genome Res.*, 2005, 109: 360-367.
18. Banks P.M., Xu S.J., Wang R.R., Larkin P.J. Varying chromosome composition of 56-chromosome wheat × *Thinopyrum intermedium* partial amphiploids. *Genome*, 1993, 36: 207-215.

¹Центр молекулярной биотехнологии,
ФГБОУ ВПО Российский государственный аграрный
университет РГАУ—МСХА им. К.А. Тимирязева,

Поступила в редакцию
19 августа 2012 года

127550 г. Москва, Тимирязевская, 49,
e-mail: pavelkroupin@gmail.com, divashuk@gmail.com,
karlov@timacad.ru;

²Учреждение Российской академии наук
Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН,
127276 г. Москва, Ботаническая ул., 31,
e-mail: nex_snegiri@mail.ru;

³ГНУ Всероссийский НИИ фитопатологии
Россельхозакадемии,
143050 Московская обл., Одинцовский р-н, п/о Большие Вяземы,
e-mail: zhemchuzhina@vniif.ru, kovalenko@vniif.ru;

⁴ФГБУН Институт общей генетики
им. Н.И. Вавилова РАН,
119991 ГСП-1, г. Москва, ул. Губкина, 3,
e-mail: vla-upelniek@yandex.ru

INVESTIGATION OF INTERMEDIARY WHEAT-AGROPYRON HYBRIDS ON RESISTANCE TO LEAF RUST

*P. Yu. Krupin¹, M.G. Divashuk¹, V.I. Belov², A.I. Zhemchuzhina³, E.D. Kovalenko³,
V.P. Upelniek^{2, 4}, G.I. Karlov¹*

S u m m a r y

The estimation was made for 18 variants of octaploid winter wheat-Agropyron hybrids (WAN) ($2n = 56$) on juvenile resistance to 10 isolates of leaf rust. By the use of molecular markers the presence of different subgenomes of *Thinopyrum* sp. in investigated variants was shown. In variants of WAN the authors revealed a polymorphism on resistance to test-isolates of leaf rust, which may be due to various number of agropyron chromosomes in genome. The authors discussed the possibility of using studied WAN in breeding on resistance to leaf rust and the role of resistance in improvement of economical-valued determinants of WAN in breeding process.

Вниманию читателей: новая книга! Вишнякова М.А., Клычкова Т.М. Екатерина Сахарова: жизнь на орбите Николая Вавилова.

Это первая книга об Екатерине Николаевне Сахаровой, в которой систематизированы ранее неизвестные сведения о ее жизни, общественной и профессиональной деятельности. Она была сокурсницей Н.И. Вавилова по Московскому сельскохозяйственному институту («Петровке») в 1906-1911 годах, впоследствии ставшей его женой. По свидетельствам очевидцев и самого Н.И. Вавилова, она была «звездой Петровки», самой умной, образованной слушательницей, которую уважали все — от студентов до профессоров. Ее называли любимой ученицей известного ученого А.Ф. Фортунатова — крупнейшего специалиста в области сельскохозяйственного обществоведения, у которого она специализировалась одновременно с А.В. Чайновым и будущим известным педагогом С.Т. Шацким. Впоследствии свою профессию Е.Н. Сахарова обозначала как «агроном-педагог-референт», что, однако, недостаточно полно отражало ее деятельность. Она была ярким публицистом, хорошо знавшим литературу, историю, политэкономия, владела четырьмя европейскими языками. В первую половину своей жизни она вела насыщенную общественную деятельность: до революции участвовала в политических кружках РСДРП(б), после революции занималась пропагандой кооперативного строительства, принимала активное участие в деятельности «Общества сближения с Англией», популяризировала зарубежный кооперативный, аграрный и педагогический опыт. Она перевела ряд книг по науковедению, агрономии, педагогике, написала огромное число рефератов. В круг ее общения входили видные общественные деятели того времени. В качестве спутницы Н.И. Вавилова Е.Н. Сахарова сыграла определенную роль в его становлении как ученого, помогала в овладении языками, сопровождала в длительной зарубежной стажировке в Европу, совместно с ним (в качестве переводчика) подготовила к публикации две книги зарубежных авторов. Она была матерью его первого сына.

В книге приводится история взаимоотношений двух умных, сильных, недожженных личностей. Их брак распался, но до конца жизни они остались друзьями, способными трезво обсуждать практические вопросы воспитания сына и бытия, а также партнерами, у которых были общие дела и интересы. Представлены немногочисленные сохранившиеся и ранее не опубликованные письма Е.Н. Сахаровой к Н.И. Вавилу, Н.А. Бердяеву, к сестрам, сведения из ее дневников, письма Н.И. Вавилова к ней и впервые публикуемые письма к сыну Олегу. Впервые составлен список публикаций Е.Н. Сахаровой. Публикуются фотографии семьи Сахаровых, известных людей из их ближнего окружения, фотографии Е.Н. Сахаровой и ее рисунки, фотографии их сына Олега, погибшего в 1946 году. В основу книги легли архивные материалы, в том числе документы из семейного архива.

Информация о выходе в свет и приобретении: m.vishnyakova@vir.nw.ru