

УДК 633.16:632.4:631.523

**КАРТИРОВАНИЕ ЛОКУСОВ,
КОНТРОЛИРУЮЩИХ УСТОЙЧИВОСТЬ ЯЧМЕНЯ
К РАЗЛИЧНЫМ ИЗОЛЯТАМ *Pyrenophora teres f. teres*
И *Cochliobolus sativus***

© 2014 г. **О.С. Афанасенко¹, А.В. Козьяков¹, П. Хедлэй², Н.М. Лашина¹,
А.В. Анисимова¹, О. Маннинен³, М. Ялли⁴, Е.К. Потокина⁵**

¹ ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений,
Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, e-mail: olga.s.afan@gmail.com;

² Институт Джеймса Хаттона, Данди, Шотландия;

³ Центр сельскохозяйственных исследований Финляндии, Йокиоиннен, Финляндия;

⁴ Бореал, Йокиоиннен, Финляндия;

⁵ ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства
им. Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия

Поступила в редакцию 1 сентября 2014 г. Принята к публикации 29 сентября 2014 г.

Сетчатая пятнистость ячменя (*Hordeum vulgare* L.), вызываемая грибом *Pyrenophora teres f. teres*, и темно-бурая – возбудителем *Cochliobolus sativus*, относятся к числу наиболее распространенных и вредоносных болезней в ареале культуры. Селекция ячменя на устойчивость к этим болезням предполагает наличие генетического разнообразия устойчивости. В дигамплоидной популяции «А», полученной от скрещивания эфиопского образца к-23874, устойчивого к *P. teres f. teres*, с восприимчивым сортом Пиркка, выявлен SNP-маркер (11_11067, позиция 58 сМ) на хромосоме 6Н, который был достоверно ($p < 0,05$) сцеплен с устойчивостью к трем изолятам *P. teres f. teres*. В дигамплоидной популяции «В» (Зерноградский 813 × Ранний 1) обнаружено 11 QTLs, контролирующих устойчивость к 12 изолятам *P. teres f. teres* на всех хромосомах ячменя и 14 QTLs – к 12 изолятам *C. sativus* на всех хромосомах, кроме 4Н. Показана изолят-специфичность выявленных QTLs, ассоциированных с устойчивостью к *P. teres f. teres* и *C. sativus*. Большинство выявленных локусов находятся в интервалах между SNP-маркерами, в которых другими исследователями уже были обнаружены QTL, контролирующие устойчивость к *P. teres f. teres* и *C. sativus*. На хромосомах 1Н, 4Н и 5Н выявлены 4 новых изолят-специфичных QTL, контролирующих устойчивость к *P. teres f. teres*. Пять новых QTL, ассоциированных с устойчивостью к *C. sativus*, были обнаружены на хромосомах 2Н, 3Н, 5Н и 6Н.

Ключевые слова: ячмень, устойчивость к болезням, дигамплоидные популяции, картирование QTL, SNP-маркеры, *Pyrenophora teres f. teres*, *Cochliobolus sativus*, молекулярные маркеры.

Мировое производство продукции растениеводства, в том числе и в России, ориентировано на ресурсосберегающие и экологически безопасные технологии. Базовой составляющей таких технологий является возделывание устойчивых к болезням сортов сельскохозяйственных культур. Все основные стратегии создания генетически защищенных сортов сельскохозяйственных культур базируются на наличии генетического разнообразия устойчивости, так как возделывание сортов с высокоэффективными

генами устойчивости на больших территориях неизбежно приводит к потере устойчивости вследствие микроэволюционных процессов в популяциях паразитов.

С появлением новых технологий молекулярного картирования и секвенирования значительно расширились возможности селекции растений на устойчивость к болезням, так как появился новый мощный инструмент контроля передаваемого признака устойчивости – молекулярные маркеры (ММ).

Маркер-вспомогательная селекция (marker assisted selection – MAS) растений на устойчивость к болезням в настоящее время широко используется в Европе, США, Канаде, Австралии. Ее преимущества очевидны, особенно при пирамидировании генов устойчивости, вовлечении в селекцию генов, которые экспрессируются только у взрослых растений, а также генетических детерминант количественной устойчивости растений к болезням. Особенную значимость приобретают ММ при создании сортов с длительной устойчивостью, так как позволяют объединять в одном генотипе гены устойчивости, обеспечивающие эффективную защиту от широкого спектра изолятов с различной вирулентностью.

Наибольшее количество ММ известно для генов устойчивости зерновых культур к возбудителям ржавчинных болезней. В России в последние годы используют разработанные за рубежом ММ для определения генетического разнообразия устойчивости пшеницы к бурой ржавчине (Тырышкин и др., 2006; Гулятьева, Волкова, 2009; Гулятьева и др., 2009; Лапочкина и др., 2009; Васильев, Беспалова, 2011; Крупин, 2011).

В последнее десятилетие как у нас в стране, так и за рубежом отмечено значительное нарастание вредоносности болезней зерновых культур, вызываемых гембиотрофными паразитами. Среди них наиболее вредоносными для ячменя во всех зонах его возделывания являются сетчатая пятнистость (возбудитель – гриб *Pyrenophora teres* Drechs f. *teres*) и темно-бурая пятнистость (возбудитель *Cochliobolus sativus* (Ito et Kurib.) Drechsler ex Dastur.), известные также как «гельминтоспориозные» пятнистости. Эпифитотии пятнистостей ячменя возникают с частотой 5 раз в 10 лет. Потери урожая восприимчивых сортов ячменя от этих болезней в годы эпифитотий составляют от 20 до 40 %. В связи с этим остро стоит проблема разработки генетического метода защиты ячменя от этих болезней.

Высокая гетерогенность популяций *P. teres* f. *teres* по признаку вирулентности и различия между географическими популяциями, обусловленные главным образом влиянием генотипов возделываемых сортов на формирование популяций патогена, указывают на необходимость

использования доноров устойчивости ячменя, эффективных против местных популяций паразита и адаптированных к условиям определенной агроклиматической зоны (Афанасенко *et al.*, 2009; Афанасенко и др., 2010).

В лаборатории иммунитета растений к болезням Всероссийского научно-исследовательского института защиты растений в результате многолетней работы и активного сотрудничества с ВНИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова и зарубежными институтами создана коллекция источников и доноров устойчивости ячменя к возбудителям гембиотрофных патогенов. Коллекция насчитывает более 400 образцов ячменя.

Целью настоящего исследования являлись идентификация и картирование генетических детерминант устойчивости ячменя к возбудителям сетчатой и темно-бурой пятнистостей в дигаплоидных картирующих популяциях, полученных от скрещивания эфиопского образца к-23874 и сорта Пиркка, а также сортов Зерноградский 813 и Ранний 1 с использованием изолятов патогенов различного происхождения, а также проверка гипотезы изолят-специфичности локусов количественной устойчивости (QTL).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Родительские генотипы дигаплоидных популяций. Для инициации культуры пыльников использовали гибриды F_1 от скрещивания сортов Ранний 1 и Зерноградский 813, а также к-23874 и Пиркка (табл. 1). Характеристика родительских компонентов скрещивания приведена в табл. 1.

Следует заметить, что сорта Зерноградский 813 и Ранний 1 проявляли дифференцирующую реакцию к обоим возбудителям.

Дигаплоидные картирующие популяции. Дигаплоидные растения ячменя были получены в культуре пыльников от гибридов F_0 комбинаций к-23874 × Пиркка и Ранний 1 × Зерноградский 813 по методике О. Manninen (1997), в которой оптимизированы фаза растений и состав культуральных сред. Получено семенное потомство 42 дигаплоидных линий (ДЛ) в комбинации к-23874 × Пиркка (популяция «А») и 114 ДЛ в комбинации Зерноградский 813 × Ранний 1 (популяция «В»).

Таблица 1

Характеристика образцов ячменя, вовлеченных в скрещивания с целью получения популяций дигаплоидных линий

Образцы (№ по каталогу ВИР)	Происхождение	Сорт/ разновидность	Устойчивость
Популяция «А»			
к-18530	Финляндия	Пиркка / pallidum	Универсально восприимчивый сорт
к-23874	Эфиопия	WGA-148-3 / parallelum	Высокоустойчив к сетчатой пятнистости, устойчив к пыльной головне и мучнистой росе
Популяция «В»			
к-27737	Россия, Новосибирская область	Ранний 1 / Nutans	Среднеустойчив к сетчатой пятнистости
к-30453	Россия, Ростовская область	Зерноградский 813 / erectum	Среднеустойчив к темно-бурой пятнистости и ринхоспориозу

Изоляты патогенов. Листья ячменя с симптомами пятнистостей собирали на сортоучастках в Ленинградской, Новгородской, Псковской областях и Краснодарском крае. Изоляцию грибов *P. teres f. teres* и *C. sativus* и получение моноконидиальных изолятов проводили на модифицированной среде Чапека по общепринятым методикам (Афанасенко, Левитин, 1979). Определение устойчивости ДЛ к *P. teres f. teres* проводили двумя методами – инокуляцией вегетирующих растений в теплице и отсеченных листьев в лабораторных условиях.

Инокуляция в теплице. Оценку устойчивости дигаплоидных линий обеих картирующих популяций к возбудителям сетчатой и темно-бурой пятнистостей проводили в условиях теплицы Центра сельскохозяйственных исследований Финляндии (Agrifood Research Finland, МТТ). Растения каждой дигаплоидной линии были высеяны в четырех повторностях по одному растению в каждый горшок с почвенно-торфяной смесью. Растения выращивали при температуре 18–22 °С и 12-часовом фотопериоде. Через 14 суток после посева относительную влажность воздуха в теплице поднимали до 100 % и растения в стадии 2–3 листьев опрыскивали конидиальной суспензией изолята *P. teres* V278 в концентрации 50 000 конидий /мл по 0,3 мл на растение. Тип реакции каждого растения и среднее значение по повторностям определяли на 10–14-е сутки по модифицированной

10-балльной шкале Текауза (Tekauz, 1985): типы реакции, оцененные в баллах в интервале от 1 до 5, относили к устойчивости, 5,1–10 – к восприимчивости.

Инокуляцию растений грибом *C. sativus* проводили суспензией моноконидиального изолята C_Fin в концентрации 10 000 конидий/мл. Для определения типов реакции растений к *C. sativus* использовали 9-балльную шкалу Фетча и Стеффенсона, в которой баллы 1–3 соответствуют устойчивости, 4–5 – промежуточной реакции и 6–9 – реакции восприимчивости (Fetch, Steffenson, 1999). При этом основным критерием для определения как промежуточного типа реакции, так и восприимчивости являлось наличие хлороза. При обработке данных средние по повторностям типы реакции от 1 до 4,5 относили к устойчивости, от 4,6 до 9 – к восприимчивости.

Инокуляция отсеченных листьев проростков. Инокуляцию отсеченных листьев проростков ДЛ, помещенных на фильтровальную бумагу, смоченную 0,004 %-м раствором бензимидазола, проводили путем опрыскивания суспензией моноконидиальных изолятов *Cochliobolus sativus* (10 000 конидий/мл) и *Pyrenophora teres f. teres* (5000 конидий/мл). (Афанасенко, 1977). Тип реакции каждого отрезка листа на инокуляцию изолятами *P. teres* учитывали на 4-е сутки по модифицированной шкале Текауза (Tekauz, 1985). Средние баллы от 1 до 5 соответствовали устойчивости, бал-

лы от 5,1 до 10 – восприимчивости. Высокая корреляция результатов заражения растений в теплице и отсеченных листьев проростков была показана в нескольких работах (Михайлова, Афанасенко, 2005; Tuohy *et al.*, 2006; Afanasenko *et al.*, 2009).

Выделение ДНК. ДНК была выделена из свежих листьев трехнедельных проростков по стандартной методике с использованием СТАВ-буфера (Saghai-Marooft *et al.*, 1984). Генотипирование проводили с использованием SNP-маркеров в лаборатории генетических технологий James Hutton Institute (Dundee, UK), с применением считывающего устройства BeadXpress (Illumina Inc.). Для генотипирования популяции был использован набор из 384 SNP-маркеров с известной генетической позицией на хромосомах ячменя (Rostoks *et al.*, 2006). Используемые SNP-маркеры относятся к первой из так называемых «панелей SNP-генотипирования ячменя» (barley oligonucleotide pool assays, BOPA1), разработанных на базе технологий Illumina GoldenGate assay (Illumina Inc., San Diego, CA).

Генетические расстояния на карте популяции «А» в связи с малой выборкой рекомбинантного потомства для данного скрещивания (42 рекомбинанта) не рассчитывались, вместо них использовались опубликованные ранее генетические расстояния между SNP-маркерами на карте референсной популяции ячменя Steptoe/Morex (Rostoks *et al.*, 2006). Для картирующей популяции «В» (114 рекомбинантов) генетические расстояния были рассчитаны по частоте рекомбинации между маркерами с помощью программного обеспечения MAPMAKER v.2 (Lander *et al.*, 1987) с использованием функции Косамби (Kosambi, 1944), минимального LOD = 3,0 (logarithm of odds, статистика отношения правдоподобия) и максимальной частоты рекомбинации 50 %.

Картирование QTLs для признака устойчивости. Картирование QTLs (Quantitative Trait Loci) осуществлялось с помощью программного обеспечения QTL Cartographer version 2,5, с применением алгоритма CIM (Compositive Interval Mapping). Минимальное пороговое значение LOD, достоверное при 95 %-м уровне значимости ($p = 0,05$), рассчитывалось для каждого изолята *P. teres* и *C. sativus* по результатам 1000 пермутаций.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Устойчивость родительских компонентов скрещивания и ДЛ. Для картирования генетических детерминант устойчивости был проведен отбор изолятов *P. teres* f. *teres* и *C. sativus* различного происхождения с учетом реакции сортов – родительских компонентов скрещивания (табл. 2). Типы реакции образца к-23874 и сорта Пиркка к трем изолятам возбудителя сетчатой пятнистости были одинаковыми: реакция образца к-23874 при инокуляции как интактных растений в теплице, так и отрезков листьев соответствовала баллам 1–2, сорта Пиркка – 8 (табл. 2, рис. 1) Выявлено единообразное расщепление по устойчивости у ДЛ популяции «А» к трем изученным изолятам. Корреляция между типами реакции интактных растений и отрезков листьев была высокой: коэффициент корреляции $r = 0,89$.

Устойчивость сорта Ранний 1 к отобранным изолятам возбудителя сетчатой пятнистости была выше по сравнению с сортом Зерноградский 813, но различия были не такие контрастные, как в популяции «А» (табл. 2, рис. 1). Для фенотипирования дигаплоидных популяций были использованы изоляты *P. teres* f. *teres* и *C. sativus*, при инокуляции которыми наблюдались контрастные реакции родительских компонентов скрещиваний (табл. 2).

Распределение линий по типам реакции на инокуляцию различными изолятами *P. teres* и *C. sativus* в популяции ДЛ «В» представлено на рис. 1 и 2. Для всех 12 изолятов *P. teres* и 10 из 12 изученных изолятов *C. sativus* наблюдается трансгрессивное расщепление в картирующей популяции: появляется класс линий, более устойчивых, чем устойчивый родитель.

Генотипирование дигаплоидных линий и картирование QTLs. Из 384 протестированных SNP маркеров 108 оказались полиморфными для популяции «А» и 164 для популяции «В». Полиморфные маркеры были использованы для установления гаплотипов рекомбинантного потомства, полученного от скрещивания родительских образцов. По результатам SNP-генотипирования были сконструированы генетические карты для двух популяций дигаплоидных линий «А» и «В», протяженность которых составила 1000 сМ и 992 сМ соответственно. Размеры по-

Таблица 2

Вирулентность изолятов
P. teres f. teres и *C. sativus* к родительским
компонентам скрещивания

Изолят	Происхождение	Тип реакции сорта, баллы	
		Пиркка	к-23874
Популяция «А»			
<i>Pyrenophora teres</i>			
V_278	Финляндия	8	1–2
P_L5	Ленинградская область	8	1–2
P_N10	Новгородская область	8	1–2
Популяция «В»			
		Зерноградский 813	Ранний 1
<i>Pyrenophora teres</i>			
PL9	Ленинградская область	7,3	3
PN3	Новгородская область	7	3
PN7		7	3
PN10		7	3
PN18		7,3	3,2
PN19		7	2,5
PP1	Псковская область	7	2,5
PP5		7	3
PP6		7	3,5
PP7		7	3,2
PK4	Краснодарский край	7	3,5
PK5		7	3
<i>Cochliobolus sativus</i>			
CL1	Ленинградская область	3	7,2
CL8		3,2	7
CL12		2,5	7
CL18		2	7
CN1	Новгородская область	2	7
CN12		3,6	7
CN18		3	7
CP1	Псковская область	3	7,5
CP2		3	7
CP6		2,5	7
CP8		3	7
CK9	Краснодарский край	3	7,2
C_FIN	Финляндия	2	7

лученных генетических карт сопоставимы с таковыми, полученными ранее для скрещиваний Steptoe/Morex (1035 cM), Morex/Barke (1065 cM) и OWB Dominant/OWB Recessive (1215 cM) на основе генотипирования с использованием BOPA1 и BOPA2 (Close *et al.*, 2009).

При проведении QTL-анализа во внимание принимались только те изоляты, для которых пики QTL достигали порогового значения достоверности ($p = 0,05$), а также были картированы в одной и той же позиции для двух и более независимых биологических повторностей эксперимента (рис. 3).

Картирование генного локуса, детерминирующего высокую устойчивость к *P. teres f. teres* в популяции «А». В результате проведенного QTL-анализа для изолята V-278 был выявлен интервал 42–81 cM на хромосоме 6Н, в пределах которого была установлена максимальная ассоциация ($LOD = 3,9$) с картируемым признаком в четырех повторностях эксперимента. Ближайший SNP-маркер (11_11067, позиция 58 cM) на хромосоме 6Н демонстрировал сцепление с устойчивостью ($p < 0,05$, $LOD =$) и к двум другим изолятам *P. teres f. teres* (PL5 и PN10). Ранее в том же интервале хромосомы 6Н (75–78 cM) уже был описан локус устойчивости к изолятам *P. teres f. teres* (Grewal *et al.*, 2008).

Картирование QTL, контролирующих устойчивость к *P. teres f. teres* в популяции «В». QTL, контролирующие устойчивость к 12 изолятам *P. teres f. teres* в комбинации скрещивания «В», были идентифицированы на всех 7 хромосомах ячменя (табл. 3). В трех случаях сцепление признака устойчивости в одном и том же интервале между SNP-маркерами было определено более чем к одному изоляту. QTL (ближайший SNP-маркер 11_11189), достоверно сцепленный с устойчивостью к 6 изолятам *P. teres f. teres* из Краснодарского края (PK4, PK5), Псковской области (PP7, PP6 и PP5) и Новгородской области (PN18), был локализован в одном и том же интервале на длинном плече хромосомы 1Н (табл. 3). Также было выявлено совпадение позиций QTL, контролирующих устойчивость к изолятам PP1 и PP6 на длинном плече хромосомы 6Н и к изолятам PL9 и PN7 на хромосоме 7Н. Остальные выявленные QTL были изолят-специфичны. Для 5 изолятов (PP6, PP5, PN7, PP7 и PN18) выявлено по

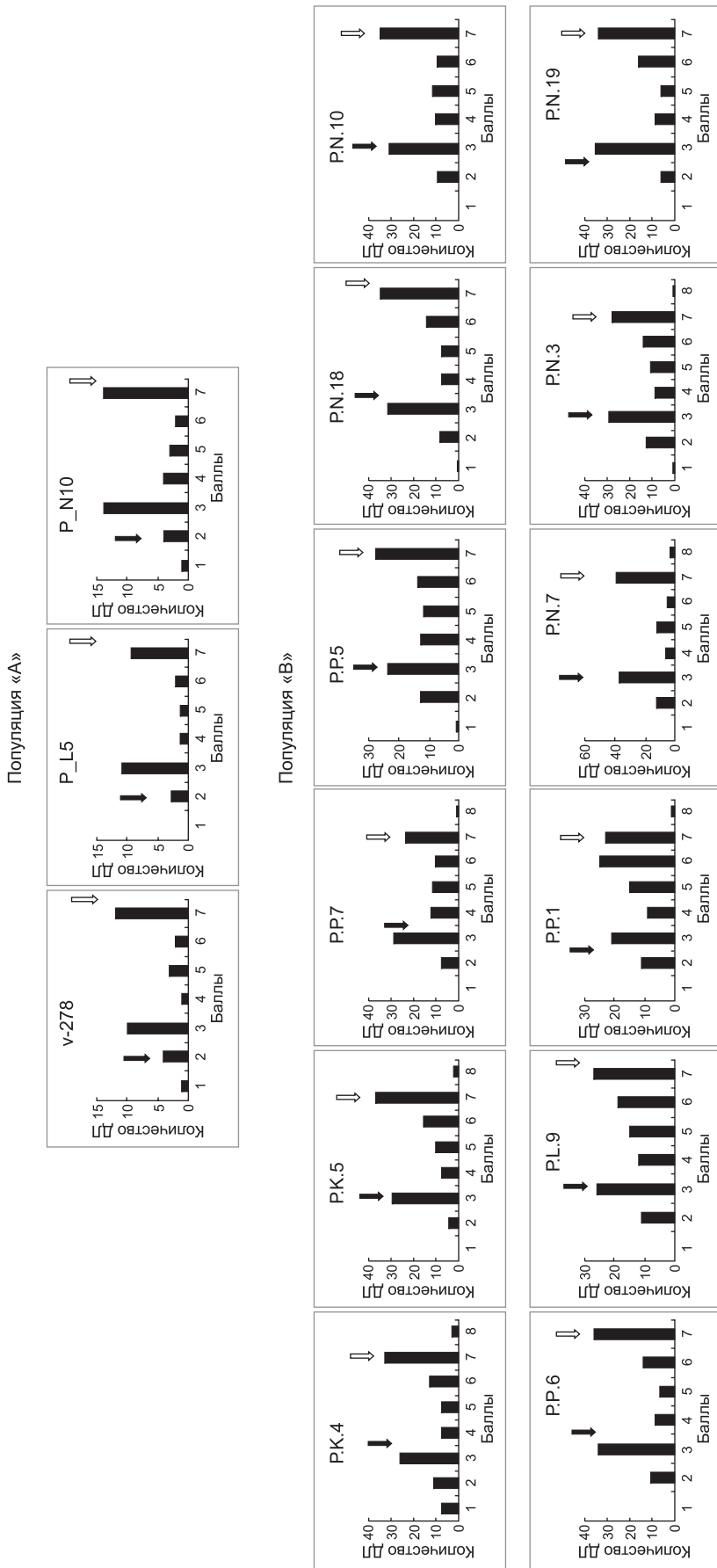


Рис. 1. Распределение дигаллоидных линий по типам реакции на инокуляцию различными изолятами *P. teres f. teres* в картирующих популяциях «А» и «В».

Стрелками показаны реакции родительских компонентов. белая – восприимчивый родитель; черная – устойчивый.

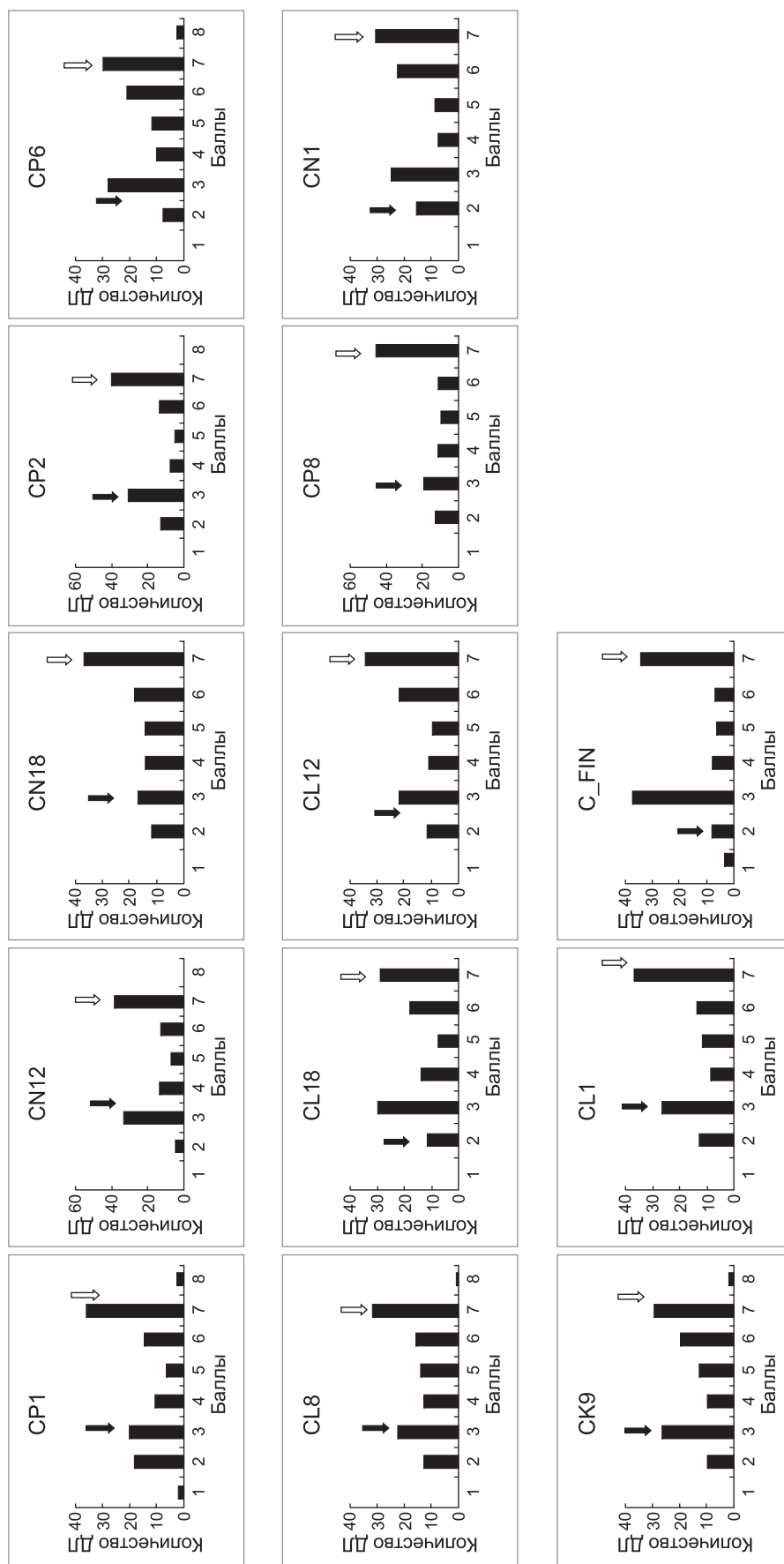


Рис. 2. Распределение дигаллоидных линий в картирующей популяции «В» по типам реакции на инокуляцию различными изолятами *C. sativus*.

Стрелками показаны реакции родительских компонентов: белая – восприимчивый родитель, черная – устойчивый.

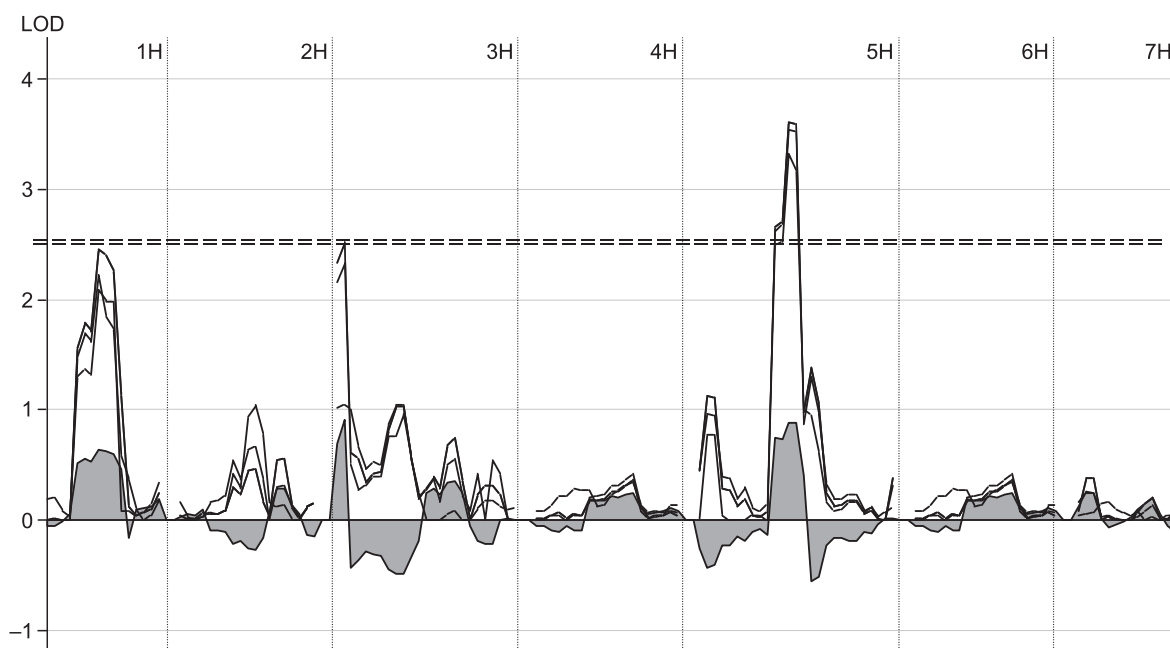


Рис. 3. Картирование QTL, контролирующих реакцию дигаплоидных линий популяции от скрещивания Зерноградский 813/Ранний 1 на заражение изолятом «PN3» *Pyrenophora teres* в четырех повторностях эксперимента.

1Н–7Н – семь хромосом ячменя. Горизонтальная – пороговый уровень достоверности LOD ($p = 0,05$). Сплошная заливка – аддитивный эффект родительских аллелей: выше нуля – более высокий балл по шкале Текауза соответствует родительским аллелям сорта Ранний 1; ниже нуля – более высокий балл соответствует аллелям сорта Зерноградский 813.

2 локуса, контролирующих устойчивость к каждому изоляту. Всего обнаружено 11 QTL, контролирующих устойчивость к 12 изолятам *P. teres f. teres*.

Картирование QTL, контролирующих устойчивость к *C. sativus* в популяции «В». Сцепление SNP-маркеров с признаком устойчивости у ДЛ комбинации «В» к 12 изолятам *C. sativus* было определено на всех хромосомах ячменя, кроме 4Н (табл. 4). Перекрывающиеся интервалы между SNP-маркерами в районе центромеры хромосомы 1Н, ассоциированные с устойчивостью как к изоляту CL 18, так и к изоляту CP 8, по-видимому, свидетельствуют о том, что один и тот же локус детерминирует устойчивость к этим изолятам. Перекрывающиеся интервалы SNP-маркеров, косегрегирующих с устойчивостью к изолятам CN12 и CL1, выявлены на коротком плече хромосомы 2Н, к изолятам CP6 и CN1 – на длинном плече хромосомы 6Н. Одинаковые реакции интактных растений (изолят C_FIN) и отрезков листьев (изолят CN15) позволили выявить один и тот же QTL, контролирующий

устойчивость к этим изолятам, на длинном плече хромосомы 7Н, что свидетельствует о правомочности использования лабораторного метода инокуляции отрезков листьев.

В пяти случаях из двенадцати выявлено по 2 локуса, детерминирующих устойчивость к изолятам гриба. К 7 остальным изолятам *C. sativus* выявлены по одному изолят-специфичному QTL. Таким образом, обнаружено 14 QTL, контролирующих устойчивость к 12 изолятам *C. sativus*.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Известна высокая гетерогенность популяций *P. teres f. teres* по признаку вирулентности: на сегодняшний день выявлено от 45 до 119 патотипов гриба, в зависимости от числа использованных сортов-дифференциаторов (Khan, Tekauz, 1982; Steffenson, Webster, 1992; Serenius, 2006; Afanasenko *et al.*, 2009). В популяциях более широко специализированного патогена *C. sativus* также выявлены различные патотипы:

Таблица 3

QTL, ассоциированные с устойчивостью к изолятам *P. teres f. teres*, картированные в дигаплоидной популяции «В», полученной от скрещивания сортов Зерноградский 813 и Ранний 1

Хромо-сома	Изолят	Число повторностей	Интервал между SNP-маркерами, сМ	Ближайший SNP-маркер	LOD	R ²	Ранее выявленные QTL (сМ). Литературный источник
1Н	PK4	3	75–79	11_11189	3,9	0,13	Новый
	PP7	2			3,3	0,14	
	PN18	2			4,6	0,18	
	PP5	4			5,0	0,20	
	PP6	4	50–86	11_11189	4,0	0,15	(52,4–56,8 сМ) Grewal <i>et al.</i> , 2012
	PK5	3			3,0	0,17	
		PP5	4	96–107	11_20844	6,5	0,20
2Н	PN10	2	51–75	11_10909	3,0	0,13	(50–51 сМ) Grewal <i>et al.</i> , 2008; (62,7 сМ) Cakir <i>et al.</i> , 2011; (75–79 сМ) König <i>et al.</i> , 2014
3Н	PL9	4	112–150	11_20920	3,1	0,08	(115–119 сМ) Grewal <i>et al.</i> , 2008
4Н	PN19	2	52–59	11_11207	2,7	0,10	(50–54 сМ) Grewal <i>et al.</i> , 2008
	PK5	3	3–16	11_11345	2,8	0,11	Новый
5Н	PP7	3	108–163	11_10845	3,4	0,12	(109 сМ) Grewal <i>et al.</i> , 2008 (112,1–120,5 сМ) Grewal <i>et al.</i> , 2012 (125–129 сМ) König <i>et al.</i> , 2014
	PN3	4	56–92	11_21480	3,6	0,09	Новый
6Н	PP1	4	94–126	11_20531	3,0	0,21	(95,1–96,8 сМ) (60–65 сМ) König <i>et al.</i> , 2014
	PP6	4			3,3	0,17	
7Н	PL9	3	61–75	11_11098	4,0	0,11	

Примечание. R² – % вариации признака, ассоциированного с QTL.

из 36 изученных изолятов Северной Дакоты (США) на трех сортах-дифференциаторах выявлено 3 патотипа (Valjevec-Gratian, Steffenson, 1997); изучение 34 австралийских изолятов на 20 дифференциаторах позволило выявить 6 патотипов (Meldrum *et al.*, 2004). Гетерогенность популяций патогенов по признаку вирулентности являлась обоснованием использования нескольких изолятов для выявления генетических детерминант устойчивости.

Широкий сортимент возделываемых ячменей, быстрая ротация сортов на сортоучастках и привнесение инокулюма с непротравленными семенами от оригинаторов сортов из различных регионов России и из-за рубежа способствуют формированию высокогетерогенных популяций возбудителей. В связи с этим сбор инокулюма

для создания коллекции изолятов патогенов осуществлялся на сортоучастках Северо-Западного региона РФ и Краснодарского края.

Всего в мире для картирования генов устойчивости ячменя к болезням создано более 20 дигаплоидных популяций (Manninen *et al.*, 2006; Grewal *et al.*, 2008; Roy *et al.*, 2010; Cakir *et al.*, 2003), из них 14 – в Австралии (Cakir *et al.*, 2003; Raman *et al.*, 2003; Gupta *et al.*, 2010; Hickey *et al.*, 2011). Преимущество использования дигаплоидных картирующих популяций по сравнению с гибридными расщепляющимися популяциями для картирования QTL состоит в гомозиготности изучаемых признаков и в возможности неограниченного числа повторений экспериментов по определению устойчивости как к одному, так и к нескольким изолятам патогена.

Таблица 4

QTL устойчивости к изолятам *C. sativus*, картированные в дигиплоидной популяции «В», полученной от скрещивания сортов Зерноградский 813 и Ранний 1

Хромосома	Изолят	Число повторностей	Интервал между SNP-маркерами, сМ	Ближайший SNP-маркер	LOD	R ²	Ранее выявленный QTL (сМ). Литературный источник
1Н	CL18	4	57–96	11_10433	3,5	0,13	(90,7 сМ) Roy <i>et al.</i> , 2010
	CP8	4	40–60	11_10764	4,1	0,16	(59,7 сМ) Roy <i>et al.</i> , 2010; (41,0 сМ) Zhou <i>et al.</i> , 2013; (50 сМ, 45,5 сМ, 49,7 сМ) Gutierrez <i>et al.</i> , 2013
2Н	CK9	4	7–21	11_21377	3,5	0,15	(7,8 сМ) Roy <i>et al.</i> , 2010
	CL1	4	21–45	11_21261	5,5	0,18	Новый
	CN12	3	59–70	11_11015	3,0	0,11	Новый
	CL1	4			3,5	0,20	
3Н	CL8	3	75–122	11_10312	3,2	0,14	Новый
	CN1	4	59–86	11_20628	2,5	0,17	(66,2 сМ) Roy <i>et al.</i> , 2010
5Н	CL12	4	80–92	11_20850	3,3	0,13	Новый
	CP2	3			3,0	0,19	
	CL18	4	149–181	11_11216	2,7	0,13	(105,9 сМ) Roy <i>et al.</i> , 2010 (151,4 сМ) Gutierrez <i>et al.</i> , 2013
	CP8	4	57–92	11_21480	3,3	0,18	(82,9 сМ) Roy <i>et al.</i> , 2010 (80,6 сМ) Gutierrez <i>et al.</i> , 2013
6Н	CP6	4	87–119	11_20531	3,5	0,15	Новый
	CN1	4			3,5	0,19	
7Н	CP1	4	64–76	11_10153	3,6	0,12	Новый
	C_FIN	4	14–58	11_10920	5,0	0,16	(31,7 сМ) Zhou <i>et al.</i> , 2013
	CN15	4			4,4	0,11	(151,4 сМ) Gutierrez <i>et al.</i> , 2013; Roy <i>et al.</i> , 2010
	CK9	4	76–120	11_21229	3,0	0,22	Новый

Нами инициирована работа по созданию дигиплоидных картирующих популяций ячменя с целью картирования QTL и «главных» (major) генов, контролирующих устойчивость к возбудителям «гельминтоспориозных» пятнистостей. В данной работе представлены результаты по картированию признака устойчивости ячменя к возбудителям сетчатой и темно-бурой пятнистостей в двух дигиплоидных популяциях.

Для оценки реакции дигиплоидных линий на инокуляцию изолятами возбудителей сетчатой и темно-бурой пятнистостей были использованы методы инокуляции интактных растений в теплице и отрезков листьев, метаболизм которых поддерживался раствором бензимидазола.

Обнаружены одни и те же локусы, контролирующие устойчивость как интактных растений, так и отрезков листьев к трем изолятам *P. teres f. teres* и к двум изолятам *C. sativus*, что свидетельствует о возможности использования менее трудоемкого лабораторного метода в такого рода исследованиях. Метод инокуляции отсеченных листьев при картировании локусов устойчивости к *P. teres f. teres* был также использован в работе König с соавт. (2014).

В популяции «А» родительскими компонентами скрещивания являлись эфиопский образец к-23874, отличающийся высокой устойчивостью к большинству изолятов *P. teres f. teres* (тип реакции 1–2 балла), и универсально восприимчивый

финский сорт Пиркка. Качественное различие в реакции родителей позволило выявить «главный» ген в районе центромеры короткого плеча хромосомы 6Н. SNP-маркер 11_11067 (позиция 58 сМ) продемонстрировал сцепление с признаком устойчивости к изоляту V-278 *P. teres* f. *teres* во всех четырех повторностях эксперимента, а также к двум другим изолятам гриба.

Ранее на этом участке хромосомы 6Н уже был локализован ген, детерминирующий устойчивость к *P. teres* f. *teres* (Grewal *et al.*, 2008). Также в районе центромеры хромосомы 6Н у эфиопского образца CI 9819 был идентифицирован высокоэффективный ген устойчивости к сетчатой пятнистости *Rpt5* (Manninen *et al.*, 2006). В работах других исследователей на этом же участке хромосомы 6Н был локализован ген, детерминирующий устойчивость к *P. teres* f. *teres* у сортов Steptoe (Steffenson *et al.*, 1996), TR306 (Spaner *et al.*, 1998), Kaputar (Cakir *et al.*, 2003), Chevron (Ma *et al.*, 2004), ND11231*12 (Emebiri *et al.*, 2005) и Pompadour (Gupta *et al.*, 2010). Многие авторы склоняются к мнению, что в этом районе хромосомы 6Н имеется кластер из нескольких генов устойчивости к *P. teres* f. *teres* или речь идет о множественном аллелизме одного гена (Manninen *et al.*, 2006; Abu-Qamar *et al.*, 2008; Gupta *et al.*, 2011). Кроме того, в районе центромеры хромосомы ячменя 6Н определены также: QTL *Rphq3*, контролирующий устойчивость к *Puccinia hordei* (Marcel *et al.*, 2007), QTL *Triton^RRrs6H²⁷¹* – к *Rhynchosporium secalis* (Wagner *et al.*, 2008), *rym15* – к вирусам VaMMV/VaYMV (Le Gouis *et al.*, 2004). Кластеризация и множественный аллелизм генов устойчивости как к облигатным, так и гемибактериальным паразитам, являются распространенными явлениями, обусловленными внутри- или межмолекулярными обменами участков ДНК, имеющих прямые или инвертированные повторяющиеся последовательности, способствующие неравному кроссинговеру; дупликацию и последующие мутационные изменения предкового гена в процессе коэволюции хозяина и патогена (Дьяков и др., 2001).

Родители дигиплоидной популяции «В» отличались по устойчивости к двум возбудителям. Сорт Ранний 1 характеризовался ювенильной устойчивостью – к *P. teres* f. *teres*, сорт Зерноградский 813 – к *C. sativus*. При этом различия в типах реакции родителей к каждому патогену

были не столь значительны, как в популяции «А». Наличие изолятов *P. teres* f. *teres*, авирулентных к обоим сортам, свидетельствует о том, что сорт Зерноградский 813 также обладает определенной специфической устойчивостью к патогену. Это, по-видимому, является причиной трансгрессивного расщепления в дигиплоидной популяции «В», выявленного к большинству исследованных изолятов *P. teres* f. *teres*. Для обоих патогенов была показана изолят-специфичность выявленных QTL. Всего обнаружено 11 QTL, контролирующих устойчивость к 12 изолятам *P. teres* f. *teres* на всех хромосомах ячменя, и 14 QTL – к 12 изолятам *C. sativus*, на всех хромосомах, кроме 4Н.

Новизна идентифицированных для ячменя QTL определялась в соответствии с опубликованными данными по QTL устойчивости к сетчатой и темно-бурой пятнистостям. Как видно из табл. 3 и 4, большинство выявленных локусов находятся в интервале, в котором уже были обнаружены QTL, контролирующие устойчивость к *P. teres* f. *teres* и *C. sativus*. В дигиплоидной популяции «В» выявлено 4 новых изолят-специфичных QTL, контролирующих устойчивость к *P. teres* f. *teres*: на хромосоме 1Н в интервале 75–79 сМ и 96–107 сМ, на хромосоме 4Н в интервале 3–16 сМ и на хромосоме 5Н в интервале 56–92 сМ (табл. 3). Новые QTL, ассоциированные с устойчивостью к *C. sativus*, были выявлены на хромосомах 2Н в интервалах 21–45 сМ и 59–70 сМ; 3Н – 75–122 сМ; 5Н – 80–92 сМ и 6Н – 87–119 сМ (табл. 4).

Изолят-специфичность «минорных» генов устойчивости ячменя к *P. teres* была показана ранее (Ho *et al.*, 1996; Афанасенко и др., 1999; Manninen *et al.*, 2006; Gupta *et al.*, 2010). По-видимому, характер взаимоотношений в патосистеме «хозяин с частичной (неполной) устойчивостью–патоген» определяется по типу «малый ген–на–малый ген». К такому же выводу пришли исследователи, изучавшие локализацию генетических детерминант устойчивости ячменя к близкородственному виду *Pyrenophora graminea* (Argu *et al.*, 2003).

Во всех исследованных патосистемах число выявленных QTL значительно превышает число «главных» генов устойчивости. Известны только два гена, детерминирующие высокую устойчивость к возбудителю темно-бурой пятни-

стости: *Rcs5*, локализованный на хромосоме 7Н (Steffenson *et al.*, 1996) и *QRcs1* – на хромосоме 1Н (Grewal *et al.*, 2012) и 12 QTL на всех хромосомах ячменя кроме 4Н и 6Н (Roy *et al.*, 2010; Grewal *et al.*, 2012). Использование в селекционной работе молекулярных маркеров генетических детерминант устойчивости значительно упростит процедуру объединения нескольких генов и QTL в одном генотипе растения. В этой связи особенно важным становится выявление наиболее полезных для селекции комбинаций генов устойчивости как к различным расам одного патогена, так и к разным видам возбудителей. Имеются примеры проявления эпистаза при объединении некоторых локусов, контролирующих устойчивость, в том числе и к *P. teres* f. *teres* (Gupta *et al.*, 2010). С другой стороны, нами выявлены комбинации генов устойчивости, к которым в природных популяциях возбудителя сетчатой пятнистости отсутствуют изоляты с соответствующей комбинацией комплементарных генов вирулентности (Афанасенко, Новожилов, 2009).

Наличие в лаборатории иммунитета растений к болезням ВИЗР источников и доноров устойчивости ячменя к «гельминтоспориозным» пятнистостям, охарактеризованных по эффективности в различных агроклиматических условиях, открывает перспективу для создания дигаплоидных популяций и выявления генетического разнообразия устойчивости путем картирования генов. Исследования в этом направлении будут способствовать не только реализации генетического потенциала устойчивости для защиты сельскохозяйственных культур от болезней, но и накоплению фундаментальных знаний по структурной и функциональной организации генетических детерминант устойчивости растений к болезням.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ № 14-04-00400 и № 12-04-01161.

ЛИТЕРАТУРА

- Афанасенко О.С. Лабораторный метод оценки устойчивости сортообразцов ячменя к возбудителю сетчатого гельминтоспориоза // С.-х. биология. 1977. Т. 12. № 2. С. 297–299.
- Афанасенко О.С., Зубкович А.А., Макарова И.Г. Генетический контроль устойчивости образцов ячменя к штаммам *Pyrenophora teres* Drechs. // Генетика. 1999. Т. 35. № 3. С. 336–340.
- Афанасенко О.С., Левитин М.М. Структура популяций возбудителя сетчатой пятнистости ячменя по признаку вирулентности. I. Идентификация рас // Микол. и фитопатология. 1979. Т. 13. Вып. 3. С. 230–234.
- Афанасенко О.С., Мироненко Н.В., Анисимова А.В., Лашина Н.М., Радюкевич Т.Н., Лоскутов И.Г., Новожилов К.В. Методологическое обеспечение селекции ячменя на устойчивость к пятнистостям листьев // Технологии создания и использования сортов и гибридов с групповой и комплексной устойчивостью к вредным организмам в защите растений. 2010. С. 217–228.
- Афанасенко О.С., Новожилов К.В. Проблемы рационального использования генетических ресурсов устойчивости растений к болезням // Экол. генетика. 2009. Т. 7. № 2. С. 38–43.
- Васильев А.В., Беспалова Л.А. Первые шаги по применению маркер-опосредованного отбора в селекции сортов пшеницы в Краснодарском НИИСХ им. П.П. Лукьяненко // XI Молодежная конф. «Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и ветеринарии». 2011. С. 19–20.
- Гульязева Е.И., Волкова Г.В. Идентификация генов устойчивости к бурой ржавчине у сортов пшеницы с использованием молекулярных маркеров // Вестн. защиты растений. 2009. № 3. С. 32–36.
- Гульязева Е.И., Канюка И.А., Алпатьева Н.В., Баранова О.А., Дмитриев А.П., Павлюшин В.А. Молекулярные подходы в идентификации генов устойчивости к бурой ржавчине у российских сортов пшеницы // Докл. РАСХН. 2009. № 5. С. 23–26.
- Дьяков Ю.Т., Озерецковская О.Л., Джавахия В.Г., Багирова С.Ф. Общая и молекулярная фитопатология. М.: Об-во фитопатологов, 2001. 302 с.
- Крупин П.Ю. Молекулярно-цитогенетическая характеристика коллекции промежуточных пшенично-пырейных гибридов: Автореф. ... канд. наук. М.: Всерос. науч.-исслед. ин-т сельскохоз. биотехнологии РАСХН, 2011. 18 с.
- Лапочкина И.Ф., Гайнуллин Н.Р., Дженин С.В., Руденко М.И., Макарова И.Ю., Иорданская И.В., Кызласов В.Г., Коваленко Е.Д., Жемчужина А.И. Использование молекулярных маркеров в передаче эффективных генов устойчивости от новых доноров в сорта мягкой пшеницы // Матер. конф. РАСХН-РФФИ. 2009. С. 70–73.
- Михайлова Л.А., Афанасенко О.С. Применение отсеченных листьев в исследованиях устойчивости злаков к болезням // Микология и фитопатология. 2005. № 6. С. 100–112.
- Тырышкин Л.Г., Гульязева Е.И., Алпатьева Н.В. Идентификация эффективных генов устойчивости пшеницы *Triticum aestivum* к бурой ржавчине с помощью STS маркеров // Генетика. 2006. Т. 42. № 6. С. 812–817.
- Afanasenko O., Jalli M., Pinnschmidt H., Filatova O., Platz G. Development of an international standard set of barley differential genotypes for *Pyrenophora teres* f. *teres* // Plant Pathol. 2009. V. 58. P. 665–676.
- Abu Qamar M., Liu Z.H., Faris J.D., Chao S., Edwards M.C.,

- Lai Z., Franckowiak J.D., Friesen T.L. A region of barley chromosome 6H harbors multiple major genes associated with net type net blotch resistance // *Theor. Appl. Genet.* 2008. V. 117. No. 8. P. 1261–1270.
- Arru L., Francia E., Pecchioni N. Isolate-specific QTLs of resistance to leaf stripe (*Pyrenophora graminea*) in the Steptoe × Morex spring barley cross // *Theor. Appl. Genet.* 2003. V. 106. P. 668–675.
- Cakir M., Gupta S., Li C., Hayden M., Mather D.E., Ablett G.A., Platz G.J., Broughton S., Chalmers K.J., Loughman R., Jones M.G.K., Lance R.C.M. Genetic mapping and QTL analysis of disease resistance traits in the barley population Baudin × AC Metcalfe // *Crop and Pasture Science.* 2011. V. 62. No. 2. P. 152–161.
- Cakir M., Gupta S., Platz G.J., Ablett G.A., Loughman R., Embiri L.C., Poulsen D., Li C.D., Lance R.C.M., Galwey N.W., Jones M.G.K., Appels R. Mapping and validation of the genes for resistance to *Pyrenophora teres* f. *teres* in barley (*Hordeum vulgare* L.) // *Aust. J. Agric. Res.* 2003. V. 54. P. 1369–1377.
- Close T.J., Bhat P.R., Lonardi S., Wu Y., Rostoks N., Ramsay L., Druka A., Stein N., Svensson J.T., Wanamaker S., Bozdog S., Roose M.L., Moscou M.J., Chao S., Varshney R.K., Szücs P., Sato K., Hayes P.M., Matthews D.E., Kleinhofs A., Muehlbauer G.J., DeYoung J., Marshall D.F., Madisetty K., Fenton R.D., Condamine P., Graner A., Waugh R. Development and implementation of high-throughput SNP genotyping in barley // *BMC Genomics.* 2009. V. 10. P. 582.
- Emebiri L.C., Platz G., Moody D.B. Disease resistance genes in a doubled haploid population of two-rowed barley segregating for malting quality attributes // *Aust. J. Agric. Res.* 2005. V. 56 (1). P. 49–56.
- Fetch T.G.J., Steffenson B.J. Rating scales for assessing infection responses of barley infected with *Cochliobolus sativus* // *Plant Disease.* 1999. V. 83. P. 213–217.
- Grewal T.S., Rosnagel B.G., Pozniak C.J., Scoles G.J. Mapping quantitative trait loci associated with barley net blotch resistance // *Theor. Appl. Genet.* 2008. V. 116. P. 529–539.
- Grewal T.S., Rosnagel B.G., Scoles G.J. Validation of molecular markers associated with net blotch resistance and their utilization in barley breeding // *Crop Sci.* 2010. V. 50. P. 177–184.
- Grewal T.S., Rosnagel B.G., Scoles G.J. Mapping quantitative trait loci associated with spot blotch and net blotch resistance in a doubled-haploid barley population // *Mol. Breed.* 2012. V. 30. P. 267–279.
- Gupta S., Li C.D., Loughman R., Cakir M., Platz G., Westcott S., Bradley J., Broughton S., Lance R. Quantitative trait loci and epistatic interactions in barley conferring resistance to net type net blotch (*Pyrenophora teres* f. *teres*) isolates // *Plant Breed.* 2010. V. 4. P. 268–362.
- Gupta S., Li C., Loughman R., Cakir M., Westcott S., Lance R. Identifying genetic complexity of 6H locus in barley conferring resistance to *Pyrenophora teres* f. *teres* // *Plant Breed.* 2011. V. 130. P. 423–429.
- Gutiérrez L., Berberian N., Capetini F. *et al.* Genome-wide association mapping identifies disease-resistance QTLs in barley germplasm from Latin America // *Advance in Barley Sciences. Proc. of 11th Intern. Barley Genet. Symp.* 2013. P. 209–215.
- Hickey L.H., Lawson W., Platz G.J., Dieters M., Arief V.N., Germán S., Fletcher S., Park R.F., Singh D., Pereyra S., Franckowiak J. Mapping Rph20: A gene conferring adult plant resistance to *Puccinia hordei* in barley // *Theor. Appl. Genet.* 2011. V. 123. P. 1–25.
- Ho K.M., Tekauz A., Choo T.M., Martin R.A. Genetic studies on net blotch resistance in barley cross // *Can. J. Plant Sci.* 1996. V. 76. P. 715–719.
- Khan T.N., Tekauz A. Occurrence and pathogenicity of *Drechslera teres* isolates causing spot type symptoms on barley in Western Australia // *Plant Dis.* 1982. V. 66. P. 423–425.
- Kosambi D.D. The estimation of map distances from recombination values // *Ann. Eu-gen.* 1944. V. 12. P. 172–175.
- König J., Perovic D., Kopahnke D., Ordon F. Mapping seedling resistance to net form of net blotch (*Pyrenophora teres* f. *teres*) in barley using detached leaf assay // *Plant Breed.* 2014. V. 133. 3. P. 356–365.
- Lander E., Green P., Abrahamson J., Barlow A., Daly M., Lincoln S., Newburg L. Mapmaker: an interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations // *Genomics.* 1987. No. 1. P. 174–181.
- Le Gouis J., Devaux P., Werner K., Hariri D., Bahrman N., Beghin D., Ordon F. Rym15 from the Japanese cultivar Chikurin Ibaraki 1 is a new barley mild mosaic virus (BaMMV) resistance gene mapped on chromosome 6H // *Theor. Appl. Genet.* 2004. V. 108. No. 8. P. 1521–1525.
- Ma Z.Q., Lapitan N.L.V., Steffenson B. QTL mapping of net blotch resistance genes in a doubled-haploid population of six-rowed barley // *Euphytica.* 2004. V. 137. P. 291–296.
- Manninen O. Optimizing anther culture for barley breeding // *Agr. Food Sci. Finland.* 1997. V. 6. P. 389–398.
- Manninen O.M., Jalli M., Kalendar R., Schulman A., Afa-nasenko O., Robinson J. Mapping of major spot-type and net-type net blotch resistance genes in the Ethiopian barley (*Hordeum vulgare*) line CI 9819 // *Genome.* 2006. V. 49. P. 1564–1571.
- Marcel T., Aghnoum R., Durand J., Varshney R.K., Niks R.E. Dissection of the barley 2L1.0 region carrying the ‘Laevigatum’ quantitative resistance gene to leaf rust using near-isogenic lines (NIL) and subNIL // *Mol. Plant Microbe Interact.* 2007. V. 20. No. 12. P. 1604–1615.
- Meldrum S.I., Platz G., Ogle H.J. Pathotypes of *Cochliobolus sativus* on barley in Australia // *Aust. Plant Pathol.* 2004. V. 33. P. 109–114.
- Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.* 1962. V. 15. No. 3. P. 473–497.
- Raman H., Venkatanagappa S., Rehman A., Rehman A., O’Bree B., Read B. Graphical genotyping of barley using molecular markers linked with malting quality, disease resistance and aluminium tolerance // *Barley Tech. Cereal Chem.* 2003. P. 246–249.
- Rostoks N., Ramsay L., MacKenzie K., Cardle L., Bhat P.R., Roose M.L., Svensson J.T., Stein N., Varshney R.K., Marshall D.F., Graner A., Clos T.J., Waugh R. Recent history of artificial outcrossing facilitates whole-genome association mapping in elite inbred crop varieties // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2006. V. 103. P. 18656–18661.

- Roy J.K., Smith K.P., Muehlbauer G.J., Chao S., Close T.J., Steffenson B.J. Associating mapping of spot blotch resistance in wild barley // *Mol. Breed.* 2010. V. 26. P. 243–256.
- Saghai-Marouf M.A., Soliman K.M., Jorgenson R.A., Jorgenson R.A., Allard R.W. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1984. V. 81. P. 8014–8018.
- Serenius M. Population structure of *Pyrenophora teres* the causal agent of net blotch of barley // *Agrifood Res. Rep.* 2006. V. 78. 60 p.
- Spaner D.S.L., Falak T.M., Choo I., Legge K.G., Briggs W.G., Falk D.E., Ullrich S.E., Tinker N.A., Steffenson B.J., Mather D.E. Mapping of disease resistance loci in barley on the basis of visual assessment of naturally occurring symptoms // *Crop Sci.* 1998. V. 38. P. 843–850.
- Steffenson B.J., Webster R.K. Pathotype diversity of *Pyrenophora teres* f. *teres* on barley // *Phytopathology.* 1992. V. 82. P. 170–177.
- Steffenson B.J., Hayes P.M., Kleinhofs A. Genetics of seedling and adult plant resistance to net blotch (*Pyrenophora teres* f. *teres*) and spot blotch (*Cochliobolus sativus*) in barley // *Theor. Appl. Genet.* 1996. V. 92. P. 552–558.
- Tekauz A. A numerical scale to classify reactions of barley to *Pyrenophora teres* // *Can. J. Plant Pathol.* 1985. V. 7. P. 181–183.
- Tuohy J.M., Jalli M., Cooke B.M., Sullivan E.O. Pathogenic variation in populations *Dreschlera teres* f. *teres* and *D. teres* f. *maculata* and differences in host cultivar responses // *Eur. J. Plant Pathol.* 2006. V. 116. No. 3. P. 177–185.
- Valjavec-Gratian M., Steffenson B.J. Pathotypes of *Cochliobolus sativus* on barley in North Dakota // *Plant Dis.* 1997. V. 81. P. 1275–1278.
- Wagner C., Schweizer G., Kramer M., Dhmer-Badani A.G., Ordon F., Friedt W. The complex quantitative barley – *Rhynchosporium secalis* interaction: newly identified QTL may represent already known resistance genes // *Theor. Appl. Genet.* 2008. V. 118. P. 113–122.
- Zhou H., Steffenson B.J. Association mapping of septoria speckled leaf blotch resistance in US barley breeding germplasm // *Phytopathology.* 2013. V. 103. P. 600–609.

MAPPING OF THE LOCI CONTROLLING THE RESISTANCE TO *PYRENOPHORA TERES* F. *TERES* AND *COCHLIOBOLUS SATIVUS* IN TWO DOUBLE HAPLOID BARLEY POPULATIONS

O.S. Afanasenko¹, A.V. Koziakov¹, P. Hedlay², N.M. Lashina¹,
A.V. Anisimova¹, O. Manninen³, M. Jalli⁴, E.K. Potokina⁵

¹ All-Russia Research Institute for Plant Protection, Saint Petersburg, Russia,
e-mail: olga.s.afan@gmail.com;

² The James Hutton Institute, Dundee, Scotland UK;

³ Boreal, Jokioinen, Finland;

⁴ MTT Agrifood Research Finland, Jokioinen;

⁵ Vavilov Institute of Plant Industry (VIR), St. Petersburg, Russia

Summary

Net blotch of barley (*Hordeum vulgare* L.), caused by *Pyrenophora teres* f. *teres*, and spot blotch, caused by *Cochliobolus sativus*, are the most widespread and harmful diseases in the geographic range of the crop. Barley breeding for resistance to these diseases should employ a large genetic diversity. The 11_11067 SNP marker was revealed on chromosome 6H position 58 cM in double haploid (DH) population A developed by crossing of the Ethiopian accession c-23874, highly resistant to *P. teres* f. *teres*, to the susceptible Pirkka cultivar. It was reliably ($p < 0.05$) associated with resistance to three *P. teres* f. *teres* isolates. In population B (Zernogradsky 813 (MR to *C. sativus*) × Ranniy 1 (MR to *P. teres* f. *teres*), 11 QTLs controlling resistance to 12 *P. teres* f. *teres* isolates were found on all barley chromosomes and 14 QTLs for resistance to 12 *C. sativus* isolates, on all chromosomes except for 4H. For both pathogens, the revealed QTLs were shown to be isolate-specific. The majority of the loci detected were mapped in the same intervals between SNP markers where QTLs controlling resistance to *P. teres* f. *teres* and *C. sativus* had been found by other scientists. Four novel QTLs controlling resistance to *P. teres* f. *teres* were found on chromosomes 1H, 4H, and 5H. Five novel QTLs associated with resistance to *C. sativus* were found on chromosomes 2H, 3H, 5H, and 6H in DH population B.

Key words: barley, disease resistance, double haploid populations, QTL mapping, SNP markers, *Pyrenophora teres* f. *teres*, *Cochliobolus sativus*, molecular markers.