

УДК 577.11:633.11:632.4

ХАРАКТЕРИСТИКА УСТОЙЧИВОСТИ К ВОЗБУДИТЕЛЮ БУРОЙ РЖАВЧИНЫ СОРТОВ И ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ИЗ КОЛЛЕКЦИИ ВИР, НЕСУЩИХ ЧУЖЕРОДНЫЙ ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ

© 2014 г. А.С. Садовая¹, Е.И. Гультяева¹, О.П. Митрофанова²,
Е.Л. Шайдаюк¹, А.Г. Хакимова², Е.В. Зуев²

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений,
Санкт-Петербург, Россия, e-mail: gullena@rambler.ru;

² Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства им. Н.И. Вавилова,
Санкт-Петербург, Россия

Поступила в редакцию 26 сентября 2014 г. Принята к публикации 3 октября 2014 г.

Представлены результаты оценки устойчивости к возбудителю бурой ржавчины 83 образцов мягкой пшеницы коллекции ВИР, несущих чужеродный генетический материал. Выявлено 8 образцов с ювенильной устойчивостью и 27 образцов – с полевой. С использованием молекулярных маркеров показано наличие у изученного материала высоко- и частично эффективных в России генов *Lr24*, *Lr39*, *Lr37*, *Lr21* и ржаной транслокации 1AL.1RS. Образцы, содержащие эффективные *Lr*-гены, могут быть использованы в качестве доноров в селекционных программах России. Линии, созданные с участием *T. timopheevii*, были неоднородными по устойчивости, у них не выявлены молекулярные маркеры гена *Lr50*, известного для данного вида. Эти линии требуют дальнейшего изучения и проведения отборов.

Ключевые слова: мягкая пшеница, бурая ржавчина, устойчивость, молекулярные маркеры, *Lr*-гены, чужеродный генетический материал.

Бурая ржавчина (возбудитель *Puccinia triticina* Eriks.) – распространенное заболевание пшеницы во всех регионах России, которое может приводить к существенной потере урожая в годы эпифитотий. Экологически безопасным методом защиты от данного заболевания является возделывание устойчивых сортов. Результаты скрининга на устойчивость к бурой ржавчине районированных в РФ сортов мягкой пшеницы свидетельствуют об очевидном прогрессе в селекции в последние 10 лет (Новожилов и др., 1998; Гультяева, 2014). Отмечено значительное возрастание в Государственном реестре селекционных достижений России озимых сортов с полевой устойчивостью и яровых – с ювенильной, при этом с использованием молекулярных маркеров показано, что многие из них защищены генами *Lr19* и *Lr9* (Гультяева и др., 2009б, 2014). Широкое возделывание таких

сортов в Западной Сибири, на Урале и Поволжье привело к потере их устойчивости (Мешкова и др., 2008). В связи с этим актуальны расширение разнообразия по *Lr*-генам у отечественных сортов мягкой пшеницы и определение стратегии их размещения в регионах.

К настоящему времени во всем мире у пшеницы идентифицировано 67 *Lr*-генов и свыше 50 % из них – чужеродные (McIntosh *et al.*, 2012). Для идентификации большинства из них разработаны молекулярные маркеры, которые позволяют контролировать процесс переноса *Lr*-генов и значительно ускорить создание устойчивых сортов.

В коллекции пшеницы ВИР содержится большое число образцов, полученных с участием различных видов пшеницы, эгилопсов, ржи и пырея и включенных в коллекцию в разные годы. Эти образцы могут представлять

интерес для селекции как источники известных эффективных чужеродных *Lr*-генов, ранее не использованных в России, так и выявленных впервые.

Цель данной работы – характеристика сортов и линий мягкой пшеницы из коллекции ВИР, несущих чужеродный генетический материал, по устойчивости к возбудителю бурой ржавчины и идентификация у них *Lr*-генов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материал исследований включал 83 сорта и линии мягкой пшеницы из коллекции ВИР (41 с озимым и 42 с яровым типом развития), полученные с участием *T. timopheevii* (Zhuk.) Zhuk. ($2n = 4x = 28$, GGAA), *Aegilops tauschii* Coss. ($2n = 2x = 14$, DD), *Ae. speltooides* Tausch ($2n = 2x = 14$, SS), *Ae. ventricosa* Tausch ($2n = 4x = 28$, $D^vD^vN^vN^v$), *Triticum timopheevii* ssp. *armeniacum* (= *Triticum araraticum* Jakubz.) ($2n = 4x = 28$, GGAA), *Thinopyrum ponticum* (= *Agropyron elongatum*) и синтетического вида *T. migushovae* Zhir. ($2n = 6x = 42$, A^bA^bGGDD). Синтетический вид создан Е.Г. Жировым в Краснодарском НИИСХ путем скрещивания естественного голозерного мутанта *T. militinae* Zhuk. et Migusch., отобранного из популяции вида *T. timopheevii*, с *Ae. tauschii* (Дорофеев и др., 1987).

Изучаемые образцы оценивали по устойчивости к бурой ржавчине в фазе проростков и взрослых растений. Устойчивость в ювенильной стадии (фаза первого листа) изучали с использованием лабораторного метода ино-

куляции отрезков листьев (Михайлова и др., 2003) и при заражении интактных растений. Тип реакции учитывали на восьмые сутки после инокуляции по шкале Майнса и Джексона, где балл: 0 – отсутствие симптомов; 0; – некрозы без пустул; 1 – очень мелкие пустулы, окруженные некрозом (R); 2 – пустулы среднего размера, окруженные некрозом или хлорозом (MR); 3 – пустулы среднего размера без некроза (MS); 4 – пустулы большого размера без некроза (S); X – пустулы на одном и том же листе разных типов, присутствуют хлорозы и некрозы (M).

Устойчивость взрослых растений изучали в 2013–2014 гг. на опытном поле ВИР (Санкт-Петербург–Пушкин) в условиях искусственного инфекционного фона, созданного путем опрыскивания опытных делянок суспензией изолятов гриба, выделенных из северо-западной популяции гриба *P. triticina*. Степень поражения бурой ржавчиной оценивали по шкале Петерсона с соавт. (Peterson *et al.*, 1948), а тип реакции – по шкале Майнса и Джексона. В течение вегетационного сезона проводили несколько учетов: первый – при появлении первых симптомов заболевания, последующие – через каждые 7 дней. За основной показатель устойчивости принимали данные последнего учета, когда наблюдалось максимальное проявление болезни (Методы ..., 1988).

Идентификацию *Lr*-генов проводили с использованием фитопатологического теста и молекулярных маркеров. Для фитопатологических исследований было отобрано 7 изолятов бурой ржавчины. Характеристика данных тест-клонов

Таблица 1

Тип реакции тест-клонов *P. triticina* при инокуляции изогенных Tc*Lr*-линий

Тест-клон	Тип реакции на Tc <i>Lr</i> -линиях, балл															
	1	2a	2b	2c	3a	3bg	3ka	9	14b	15	19	20	23	24	26	28
кLr9	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	0	3	X	0–1	0	0
кLr19	3	3	3	3	3	3	3	0	3	3	3	3	3	1	0	0
к43	3	3	3	3	3	3	3	0	3	3	0	3	3	1–2	3	0
к18	0	0	3	3	3	3	3	0	3	3	0	0;	3	0–1	3	0
кП19	3	0	0	3	3	3	3	0	3	3	0	0;	1–2	0–1	3	0
к70	0	0	0	0	3	3	3	0	3	0	0	3	2–3	0–1	3	0
к60	3	3	3	3	0	0	0–1	0	3	3	0	3	3	0–1	0	0

гриба по вирулентности к 16 изогенным *TcLr*-линиям представлена в табл. 1. Изолят «кLr9» был выделен из омской популяции в 2010 г., «кLr19» – из нижегородской в 2012 г., «к43» – из омской в 2012 г., «к18» – из саратовской популяции в 2011 г., «кП19» – из нижегородской в 2011 г., «к70» – из тамбовской в 2012 г., «к-60» – из калининградской в 2012 г.

С помощью ПЦР-маркеров идентифицировали 12 высоко- и частично эффективных чужеродных генов – *Lr9*, *Lr19*, *Lr21*, *Lr24*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr35*, *Lr37*, *Lr39/41*, *Lr47*, *Lr50*, *Lr66* и пшенично-ржаные транслокации 1BL.1RS (с генами *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8*) и 1AL.1RS (табл. 2). Выделение ДНК проводили из листьев 7–10-дневных проростков по методике Дорохова и Клоке (1997). Амплификацию ДНК проводили по представленным в литературе протоколам (табл. 2) и при необходимости модифицировали. Амплифицированные фрагменты разделяли электрофорезом в 1,5 %-м агарозном геле в 1×TBE-буфере, гели окрашивали бромистым этидием и фотографировали в ультрафиолетовом свете.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При изучении ювенильной устойчивости выявлено 8 образцов: Cutless (к-62517), KS90WGRC10 (к-62377), KS93U149 (к-62382), KS93U62 (к-63933), KS93U50 (к-63937), KS92WGRC22 (к-65156), KS96WGRC38 (к-65157) и KS96WGRC40 (к-65158) – все из США, иммунных к бурой ржавчине на протяжении всего периода вегетации (табл. 3). Все остальные исследованные образцы характеризовались различной степенью восприимчивости в фазе проростков и взрослых растений.

По результатам оценки в полевых условиях Северо-Запада к группе высокоустойчивых (отсутствие симптомов поражения) отнесены сорт Hadden (к-54855, США), линия ИТ-5 (к-50851, Россия), гибрид Cheyenne × *T. timopheevii* (к-45678, Канада) и сорт Brigadier (к-63322, Франция). К группе устойчивых (поражение до 5 %) отнесен сорт Восторг (к-64584, Россия), у которого отмечен умеренно восприимчивый тип реакции Х (MS), а также образцы с восприимчивым типом (балл 3–4 (S)): Wisc. 245 (к-43577), ND600 (к-60781), IL-1/Chinese*2/

T. timopheevii (к-45165), Allard 52-1-1-17-1 (к-49928), KS86WGRC02 (к-62373) – все из США; AC Minto (к-62878, Канада), Alert (к-63901) и Beaufort (к-63920) из Великобритании. Умеренной устойчивостью (поражение до 15 %, тип реакции S) характеризовались образцы Archer (к-63300, Франция) и Steele (к-63031, США). Умеренная восприимчивость (поражение 20–30 %) выявлена у озимого сорта Centurion (к-62811, Франция) и пшенично-пырейной замещенной линии мягкой пшеницы Blue A (к-43091, Канада), при этом она имела более низкий тип реакции (M).

Высокая неоднородность по устойчивости к бурой ржавчине отмечена у 8 интрогрессивных линий, созданных в ВИР Н.А. Скурыгиной (1984) с привлечением вида *T. timopheevii*, и линии 36 (к-61518) из Эстонии. В составе этих линий выявлены растения как без симптомов болезни, так и в разной степени пораженные (табл. 3). В 2013–2014 гг. у пораженных растений линий ИТ-1 (к-50847), ИТ-6 (к-50852), ИТ-13а (к-50857), ИТ-15 (к-50858) максимальное развитие болезни составляло не более 5 %; у линии ИТ-3 (к-50849) – до 10–15 %, при этом в отличие от других линий у нее наблюдали умеренную устойчивость по типу реакции (2 балла); у линии 36 и ИТ-7 (к-50853) степень поражения не превышала 40 %, а у линий ИТ-4 (к-50850) и ИТ-8 (к-50854) – 70 % (табл. 3).

Все другие изученные образцы в полевых условиях показали высокую восприимчивость к бурой ржавчине. Поражение 50–60 % имели образцы KS86WGRC05 (к-62375), KS86WGRC07 (к-62376) из США и ППГ 64 (к-40230, Россия); 70–80 % – Wb.58633 (к-45164, Канада), Dipka (к-60340, ЮАР), Amidon (к-62515, США), Fleischman 481 (к-43231, Венгрия), а также пшенично-пырейные гибриды, созданные в России и Германии: ППГ 599 (к-38289), ППГ 1 (к-40229), ППГ 54/49 (к-40697), ППГ 60/49 (к-40859), ППГ 59/49 (к-40860), ППГ 56/49 (к-40870), ППГ 55/49 (к-40871), ППГ 29 (к-48704), ППГ 5 (к-54691), ППГ 113 (к-58539), ППГ 115 (к-58540); 90–100 % – Timstein (к-38498), Bledsoe (к-44405), Idaed 59C (к-44456), Idaed 59B, (к-45670) Molly (к-63555), KS86WGRC04 (к-62374), KS89WGRC03 (к-62715), KS89WGRC06 (к-63875), U1865-1-4-1 (к-63938) – все из США; Wb.60414 (к-45162) и Pewter

Таблица 2

ПЦР-маркеры, использованные для идентификации чужеродных *Lr*-генов

Ген, транслокация	Вид-источник	Праймеры	Нуклеотидная последовательность (5'-3')	Размер ампликона, п.о.	Литературный источник
<i>Lr9</i>	<i>Aegilops umbellulata</i>	SCS5F SCS5R	TGGCCCTTCAAGGAAG TGGCCCTTCTGAACGTAT	550	Gupta <i>et al.</i> , 2005
<i>Lr19</i>	<i>Agropyron elongatum</i>	SCS265F SCS265R	GGCGGATAAGCAGAGCAGAG GGCGGATAAGTGGTTATGG	512	Gupta <i>et al.</i> , 2006
<i>Lr21</i>	<i>Aegilops tauschii</i>	Lr21F Lr21R	CGCTTTTACCAGATGGTC TCTGGTATCTCACGAAGCCTT	669	http://maswheat.ucdavis.edu/protocols/Lr21/index.htm
<i>Lr24</i>	<i>Agropyron elongatum</i>	Sr24#12F Sr24#12L	CACCCGTGACATGCTCGTA AACAGGAAATGAGCAACGATGT	500	Mago <i>et al.</i> , 2005
		SCS73F SCS73R	TCGTCCAGATCAGAATGTG CTCGTCGATTAGCAGTGAG	719	Cherukuri <i>et al.</i> , 2003; Prabhu <i>et al.</i> , 2004
<i>Lr28</i>	<i>Aegilops speltoides</i>	SCS421F SCS421L	ACAAAGTAAGTCTCCACCCA AGTCGACCCGAGATTTAAC	570	Cherukuri <i>et al.</i> , 2005
<i>Lr29</i>	<i>Agropyron elongatum</i>	Lr29F24 F Lr29F24 L	GTGACCTCAGGCAATGCACACAGT GTGACCTCAGAACCGATGTCCATC	900	Procunier <i>et al.</i> , 1995
<i>Lr35</i>	<i>Aegilops speltoides</i>	Sr39F2 Sr39R3	AGAGAGAGTAGAAGAGCT AGAGAGAGAGCATCCACC	900	Gold <i>et al.</i> , 1999
		BCD260F1 35R2	GAAAGTTAAGAGGTCTTGAC TTTTGAGAAATCAGTCATCAC	931	Seyfarth <i>et al.</i> , 1999
<i>Lr37</i>	<i>Aegilops ventricosa</i>	Ventriup LN2	AGGGGCTACTGACCAAGGCT TGCAGCTACAGCAGTATGTACACAAA	259	Helguera <i>et al.</i> , 2003
<i>Lr39</i> (= <i>Lr41</i>)	<i>Aegilops tauschii</i>	GDM35-L GDM35-R	CCTGCTCTGCCCTAGATACG ATGTGAATGTGATGCATGCA	190	http://maswheat.ucdavis.edu/protocols/Lr39/index.htm
		PS10R PS10L	GCTGATGACCCCTGACCCGGT TCTTCATGCCCGGTCCGGT	282	Helguera <i>et al.</i> , 2000
<i>Lr50</i>	<i>Triticum timopheevii</i> ssp. <i>armeniicum</i>	GDM87-L GDM87-R	AATAATGTGGCAGACAGTCTTGG CCAAGCCCCAATCTCTCTCT	139	http://maswheat.ucdavis.edu/protocols/Lr50/index.htm
		WMS382-F WMS382-R	GTCAGATAACGCCGTCCAAAT CTACGTGCACCAATTTTG	110	
<i>Lr66</i>	<i>Aegilops speltoides</i>	I6-S13F I6-S13R	GGTGAACGCTAAACCCAGGTAACC CAACCTGGGAAGAATGCTGAG	695	Marais <i>et al.</i> , 2009
1BL.1RS/ 1AL.1RS	<i>Secale cereale</i>	SCM9F SCM9R	TGACAAACCC CCTTCCCTCGT TCATCGAGGCTAAGGAGGACCC	207/ 228	Weng <i>et al.</i> , 2007

Таблица 3

Характеристика образцов мягкой пшеницы по устойчивости к возбудителю бурой ржавчины в фазе проростков и взрослых растений (опытное поле ВИР, г. Пушкин, 2013, 2014 гг.)

№ по каталогу ВИР	Название образца	Происхождение	Чужеродный вид в родословной	Тип реакции проростков при инокуляции тест-клонами						Развитие болезни в полевых условиях (%) и тип реакции		Идентифицированные Lr-гены и транслокации	Информация о наличии Lr-генов по GRIS***	
				кLr9	кLr19	к43	к18	кП19	к70	к60	2013 г.			2014 г.
Яровая пшеница														
62517	Cutless	США	<i>Ae. tauschii</i>	R	R	R	R	R	R	R	0	0	Lr21	Lr21
60781	ND 600	«	«	S	R	S	R	S	R	S	1S	1S	Lr21	Lr21
54855	Hadden	«	<i>T. timopheevii</i>	S	S	S	S	S	S	S	0	0	Lr13	Lr13
50851	Линия ИТ-5	Россия	«	MS	MS	S	MR	R	MS	R	0	0	LrTt1LrTt2	LrTt1LrTt2
50847	Линия ИТ-1	«	«	S	S	S	S	S	S	S	0, 5S**	0, 5S**		
50852	Линия ИТ-6	«	«	MR	S	S	R	R	R	R	0, 5S**	0		
50857	Линия ИТ-13а	«	«	S	S	S	S	S	S	S	0, 1S**	0, 1S**		
50858	Линия ИТ-15	«	«	S	R	MS	S	S	MS	S	0	0, 1S**		
50849	Линия ИТ-3	«	«	S	S	S	S	S	S	S	1MR	1-5MR, 10-15MR**	LrTt1LrTt2	LrTt1LrTt2
50853	Линия ИТ-7	«	«	MR	MR	S	R	R	X	S	0, 5S**	0, 5S, 20-30S**		
50850	Линия ИТ-4	«	«	S	S	S	S	S	S	S	0, 70S**	0, 50-70S**		
50854	Линия ИТ-8	«	«	S	MS	S	S	S	S	S	10S	0, 30-50S**		
61518	Линия 36	Эстония	«	R	R	S	R	R	S	R	0, 5S, 30-40S**	0, 10S, 30-40S**		
62878	АС Minto	Канада	<i>Ae. tauschii</i>	R	MR	R	MR	R	R	MR	1S	5S	Lr11Lr13Lr22a	Lr11Lr13Lr22a
65264	–	Мексика	«	S	S	S	R	R	S	S	5S	5S		

Продолжение таблицы 3

№ по каталогу ВИР	Название образца	Происхождение	Чужеродный вид в родословной	Тип реакции проростков при инокуляции тест-клонами						Развитие болезни в полевых условиях (%) и тип реакции		Идентифицированные Lr-гены и транслокации	Информация о наличии Lr-генов по GRIS***	
				кLr9	кLr19	к43	к18	кП19	к70	к60	2013 г.			2014 г.
Яровая пшеница														
43577	Wis. 245	США	<i>T. timopheevii</i>	S	-	S	S	S	S	S	S	0, 1S	5S	Lr12
45165	IL-1/Chinese*2/ <i>T. timopheevii</i>	Канада	«	S	R	S	R	S	S	S	S	5S	5MS	
49928	Allard 52-1-1-17-1	США	«	S	S	S	S	S	S	S	S	5S	5S	Lr12
43091	Blue A	Канада	<i>Ag. elongatum</i>	S	S	S	R	S	S	S	S	10MS	30M	
Озимая пшеница														
62377	KS90WGRC10	США	<i>Ae. tauschii</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	0	0	Lr39 1AL.1RS
62382	KS93U149	«	<i>Ae. tauschii</i> <i>Ag. elongatum</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	-	0	Lr24 1AL.1RS
63933	KS93U62	«	«	R	R	R	R	R	R	R	R	0	0	Lr24, Lr39 1AL.1RS
63937	KS93U50	«	«	R	R	R	R	R	R	R	R	0	0	Lr24 1AL.1RS
65156	KS92WGRC 22	«	«	R	R	R	R	R	R	R	R	0	0	Lr24 1AL.1RS
65158	KS96WGRC 40	«	<i>Ae. tauschii</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	0	-	Lr39
65157	KS96WGRC38	«	<i>Ae. tauschii</i> <i>T. timopheevii</i> <i>ssp. armeniacum</i>	R	R	MR	R	R	R	R	MR	-	0	Lr41 Lr50 1AL.1RS

Окончание таблицы 3

№ по каталогу ВИР	Название образца	Происхождение	Чужеродный вид в родословной	Тип реакции проростков при инокуляции тест-клонами						Развитие болезни в полевых условиях (%) и тип реакции		Идентифицированные Lr-гены и транслокации	Информация о наличии Lr-генов по GRIS***	
				κLr9	κLr19	κ43	κ18	κП19	κ70	κ60	2013 г.			2014 г.
Озимая пшеница														
63322	Brigadier	Франция	<i>Ae. ventricosa</i>	R	R	R	S	S	S	R	0	–	IBL.1RS (Lr26) Lr 37	Lr13 Lr26 Lr37
45678	Hybrid (Cheyenne × <i>T. timopheevii</i>)	Канада	<i>T. timopheevii</i>	S	S	S	S	S	S	S	0	–		
64308	Фишт	Россия	<i>T. migushovae</i>	S	S	S	S	S	S	S	1S	0	IBL.1RS (Lr26)	
64584	Восторг	«	«	R	R	R	S	S	S	R	1S	5MR	Lr37	
63901	Alert	Велико-британия	<i>Ae. ventricosa</i>	R	S	R	R	S	S	R	0	5S		
63920	Beaufort	«	«	R	R	R	S	S	R	R	0	5S	IBL.1RS (Lr26) Lr37	Lr1 Lr26 Lr37
62373	KS86WGRC02	США	<i>Ae. tauschii</i>	S	S	S	S	R	S	R	5S	–	Lr21	Lr21 Lr 41
63300	Arche	Франция	<i>Ae. ventricosa</i>	R	R	S	S	S	S	S	1S	10S	Lr37	Lr13 Lr37
63031	Steele	США	<i>Ae. tauschii</i>	S	S	S	R	R	X	S	10S	15S		Lr2a, Lr10 Lr21
62811	Centurion	Франция	<i>Ae. ventricosa</i>	S	S	S	S	S	S	S	5S	20S	Lr37	

* Представлены результаты последнего учета; ** неоднородность образца по устойчивости к бурой ржавчине; *** GRIS – Genetic Resources Information System for Wheat and Triticale (<http://www.wheatpedigree.net>); «←» – нет данных.

(к-49440, к-45182) из Канады; N43 (к-47033, Бразилия); South Africa 43 (к-45295) и Gouritz (к-64137) из ЮАР; 690 F4 Sel.D.I. (к-49432, Кения); Titan (к-58433, Австралия); УН 96 (к-60551, Чехословакия до 1992 г.); Livanjka (к-60991, Югославия до 1990 г.); Гартус 598 (к-59398), Саратовская 73 (к-64556), Жировка (к-63377), Л-500 (к-62903), линия ИТ-2 (к-50848), линия ИТ-11а (к-50855), линия ИЛ 6 (к-60773), ППГ 186 (к-40231) и ППГ 347 (к-58541) – все из России.

С использованием тест-клонов у изученных образцов мягкой пшеницы не выявлено частично эффективных чужеродных генов *Lr9* и *Lr19*, при этом показано наличие гена *Lr26* у озимых сортов Восторг, Brigadier и Beaufort.

При молекулярно-генетическом скрининге у интрогрессивных образцов не обнаружено маркеров генов *Lr9*, *Lr19*, *Lr29*, *Lr35*, *Lr47*, *Lr50* и *Lr66*. У линий KS90WGRC10 и KS93U62 выявлен маркер GDM35 гена *Lr39*; у линий KS93U149, KS93U62, KS93U50 и KS92WGRC22 – маркеры Sr24#12 и SCS73 гена *Lr24*; у образцов KS86WGRC02 и Cutless – маркер Lr21F/R гена *Lr21*; у сортов Brigadier, Alert, Beauford, Arche, Centurion – маркер Ventriup/LN2 гена *Lr37*. Продукт амплификации размером 207 п.о., полученный с использованием маркера SCM9 и указывающий на наличие 1BL.1RS с геном *Lr26*, наблюдали у сортов Brigadier, Восторг и Beaufort, а размером 228 п.о. (транслокация 1AL.1RS) – у линий KS90WGRC10, KS93U149, KS93U62, KS93U50, KS92WGRC22, KS96WGRC40, KS96WGRC38. У линии Blue A выявлен продукт амплификации, полученный при использовании маркера SCS421 гена *Lr28*, незначительно отличающийся по размеру от контрольной линии.

ОБСУЖДЕНИЕ

В современный период наиболее эффективными во всех регионах России являются гены *Lr24*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr39* (= *Lr41*) и *Lr47*, однако ни один из них не идентифицирован в районированных отечественных сортах (Гультяева и др., 2009а, б, 2014; Zhemchuzhina, Kurkova, 2010; Gulyaeva *et al.*, 2014). Среди изученных коллекционных образцов выявлены носители генов *Lr24* и *Lr39* по отдельности и в комбинации (табл. 3).

Источником гена *Lr39* для линий KS90WGRC10 и KS93U62 был образец *Ae. tauschii* TA2460, а пырейного гена *Lr24* для KS93U149, KS93U62, KS93U50 и KS92WGRC22 – озимые североамериканские сорта TAM200 и Century, которые, в свою очередь, получили его от сорта Amigo в составе сегмента хромосомы пырея 3Ae#1L. От сорта Amigo во все названные выше линии, а также в линии KS96WGRC40 и KS96WGRC38 была перенесена и пшенично-ржаная транслокация T1AL.1RS (Jiang *et al.*, 1994). Следует отметить, что маркер гена *Lr39* не выявлен у линии KS93U149, хотя одной из ее родительских форм был тот же самый образец *Ae. tauschii* TA2460.

Ген *Lr39* преимущественно встречается в североамериканских сортах, и сорт Thunderbolt был первым, в генотип которого был введен этот ген. Сорт выращивали на больших площадях в ряде штатов, и в 2002 г. впервые были отмечены вирулентные изоляты (<http://maswheat.ucdavis.edu/protocols/Lr39/index.htm>). Ген *Lr24* имеет широкое распространение в сортах пшеницы североамериканской и австралийской селекции, однако из-за несоблюдения оптимальных площадей, занятых сортами с этим геном, он частично утратил свою эффективность в этих странах (McIntosh *et al.*, 1995). До сих пор он остается эффективным в странах Западной Европы и России (Mesterházy *et al.*, 2000; Zhemchuzhina, Kurkova, 2010; Тырышкин и др., 2014; Gulyaeva *et al.*, 2014).

У пшенично-пырейной замещенной линии Blue A, у которой пара хромосом 4D замещена на 4Ael (Zeven, 1991), идентифицирован фрагмент ДНК, незначительно отличающийся по размеру от маркера гена *Lr28*, источником которого служит *Ae. speltoides*. В полевых условиях 2013–2014 гг. поражение этой линии варьировало от 10 до 30 % с типом реакции X, а линия TcLr28 была иммунной (0 %). В фазе проростков большинство изолятов *P. triticina* были авирулентными на листьях растений линии TcLr28, но вирулентными на линии Blue A, что подтверждает отсутствие у нее гена *Lr28*.

К группе генов, характеризующихся как частично эффективные в России, относятся *Lr9*, *Lr19*, *Lr25*, *Lr27+Lr31*, *Lr36*, *Lr38*, *Lr42*, *Lr45*, *Lr49* и *Lr50*. Вирулентность штаммов возбудителя к линиям с генами *Lr25*, *Lr36*, *Lr38*, *Lr42*,

Lr45, *Lr49* и *Lr50* проявляется спорадически, в разные годы и в различных регионах, и не превышает 15 %. Вирулентность к тестерным линиям *TcLr19* и *TcLr9* наблюдается в тех регионах, где массово сконцентрированы сорта-носители генов *Lr9* и *Lr19* (Мешкова и др., 2008). Фитопатологическим тестом и молекулярными маркерами в изученном наборе не выявлено образцов с этими генами. Согласно родословной, у образца KS96WGRC38 возможно присутствие гена *Lr50*, донором которого мог быть образец TA895 дикой арапатской пшеницы *T. araraticum* (Brown-Guedira *et al.*, 1999). Однако использование SSR-маркеров *GDM87* и *WMS382* не подтвердило наличия данного гена у KS96WGRC38. Ген *Lr50* характеризуется как частично эффективный на Североамериканском континенте и преимущественно используется в селекции в пирамидировании с другими *Lr*-генами (<http://maswheat.ucdavis.edu/protocols/Lr50/index.htm>).

Все названные выше идентифицированные *Lr*-гены относят к группе «ювенильных», действие которых проявляется во всех фазах онтогенеза пшеницы, начиная с первого листа. Гены *Lr21* и *Lr37*, выявленные у части образцов изученного набора, относятся к генам устойчивости взрослых растений, их эффект отмечен на более поздних этапах онтогенеза, например, после выхода в трубку. Согласно «Каталогу генных символов пшеницы» (McIntosh *et al.*, 2012), в данную группу входят также гены *Lr12*, *Lr13*, *Lr22a*, *Lr22b*, *Lr34*, *Lr35*, *Lr46*, *Lr48* и *Lr67*.

Ген *Lr21* относится к группе высокоэффективных в США и Канаде (McIntosh *et al.*, 1995). В Западной Европе степень поражения линии *TcLr21* варьировала от 0 до 100 % в зависимости от года и страны (Mesterházy *et al.*, 2000; Hanzalová *et al.*, 2008). В фазе проростков ген *Lr21* описан как неэффективный к российской популяциям *P. triticina* (Гульгяева и др., 2009а, б; Zhemchuzhina, Kurkova, 2010), однако в фазе взрослых растений в условиях Северо-Запада в период с 2002 г. по 2014 г. линия *TcLr21* была умеренно устойчивой (поражение от 5 до 30 %), так же, как и линия KS89WGRC07, описанная ранее как донор гена *Lr40* (в настоящий период *Lr40* = *Lr21*) (McIntosh *et al.*, 1995). С использованием молекулярного маркера показано наличие у этой линии и у сорта Cutless гена *Lr21*, но

он не обнаружен у Steele и ND 600. По данным информационной базы «Genetic Resources Information System for Wheat and Triticale» ND 600, – это синонимичное название сорта Cutless, в коллекции пшеницы ВИР эти образцы имеют разные каталожные номера. По устойчивости к бурой ржавчине выявлены их различия как в фазе проростков, так и у взрослых растений. Сорт Cutless относился к группе иммунных на протяжении всего вегетационного периода, а ND 600 оказался гетерогенным при инокуляции клонами в фазе проростков, в полевых условиях на листьях его растений наблюдали единичные пустулы гриба (развитие 1 %). При создании данного образца была использована почти изогенная линия сорта Thatcher RL-6043 – источник гена *Lr21* (McIntosh *et al.*, 1995), что получило подтверждение только для сорта Cutless.

До недавнего времени во всем мире ген *Lr37* был одним из высокоэффективных генов устойчивости взрослого растения (McIntosh *et al.*, 1995). Вирулентность к нему впервые была описана в Австралии в 2002 г. К настоящему времени ген утратил эффективность в Западной Европе в связи с массовым выращиванием сортов – его носителей (Serfling *et al.*, 2011). В России поражение линии *TcLr37* различается по регионам. В Северо-Западном регионе оно варьирует в зависимости от года от 5 до 30 %. Сорта озимой пшеницы Brigadier, Alert, Beaufort, Arche, Centurion, содержащие данный ген, имели поражение от 5 до 20 %, что, вероятно, обусловлено присутствием в их генотипах дополнительных *Lr*-генов (табл. 3).

Определенный интерес для селекции может представлять серия линий ИТ, полученная в ВИР в 1970-х годах от скрещивания мягкой пшеницы с видом *T. timopheevii* и описанная как устойчивая к бурой ржавчине (Скурыгина, 1984). Многие линии выделились в настоящем анализе (табл. 3). По данным Н.А. Скурыгиной (1984), все эти линии имеют два доминантных гена, *LrTi1* и *LrTi2*, и дополнительно, по данным Р.А. McIntosh, ген *Lr18* (Скурыгина, 1989). Полевая оценка линий в условиях Северо-Западного региона в 2013–2014 гг. показала, что большинство линий – гетерогенные по устойчивости. Из них необходимо отобрать устойчивые растения и с использованием молекулярных и

цитологических методов провести у них идентификацию генов устойчивости.

При использовании универсального маркера SCM9, выявляющего транслокации 1BL.1RS от сорта Кавказ и 1AL.1RS от сорта Amigo, обнаружены образцы – носители этих транслокаций (табл. 3). Массовое использование гена *Lr26* в селекции в конце 60-х гг. прошлого века и последующее возделывание однородных по этому гену сортов на больших площадях привели к формированию мощного селективного фона для накопления вирулентных клонов. В настоящее время вирулентные к гену *Lr26* клоны гриба широко распространены во всех регионах России. Тем не менее следует отметить, что 1BL.1RS транслокация несет (кроме генов устойчивости) гены, повышающие урожайность зерна и засухоустойчивость за счет увеличения массы корней (Kim *et al.*, 2004). В связи с этим селекционеры ищут эффективные комбинации гена *Lr26* с другими *Lr*-генами. Одним из положительных примеров является использование комбинации *Lr19 + 26* (Сибикеев и др., 2011).

Несмотря на то что в транслокации 1AL.1RS не выявлено известных *Lr*-генов, несущие ее образцы характеризуются определенным уровнем устойчивости (Weng *et al.*, 2007). Это подтверждено и в настоящем анализе – большинство образцов с этой транслокацией были устойчивыми. Наличие транслокации 1AL.1RS выявлено среди районированных сортов только у сорта Богданка.

Таким образом, в результате проведенного скрининга по устойчивости к бурой ржавчине выявлены образцы – носители чужеродных генов, которые могут быть использованы в отечественной селекции. При этом следует разработать научно аргументированную стратегию их размещения в регионах РФ, чтобы не воспроизвести ситуацию, которая имела место с генами *Lr19* и *Lr9*.

Молекулярные исследования выполнены при частичной поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 14-26-00067).

ЛИТЕРАТУРА

Гульязева Е.И., Баранова О.А., Дмитриев А.П. Вирулентность и структура популяций *Puccinia triticina* в Российской Федерации в 2007 году // Вестн. защиты растений.

- 2009а. № 4. С. 33–38.
- 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. 2009б. № 5. С. 23–26.
- Гульязева Е.И., Садовая А.С., Шайдаюк Е.Л. Молекулярно-генетический скрининг новых российских сортов мягкой пшеницы по устойчивости к бурой ржавчине // Вестн. защиты растений. 2014. № 1. С. 26–29.
- Дорофеев В.Ф., Удачин Р.А., Семенова Л.В. и др. Пшеницы мира. Л.: Агропромиздат, 1987. 558 с.
- Дорохов Д.Б., Клоке Э. Быстрая и экономичная технология RAPD анализа растительных геномов // Молекуляр. генетика. 1997. Т. 33. № 4. С. 443–450.
- Методы селекции и оценки устойчивости пшеницы и ячменя к основным болезням в странах-членах СЭВ. Прага, 1988. С. 321.
- Мешкова Л.В., Росеева Л.П., Шрейдер Е.Р., Сидоров А.В. Вирулентность патотипов возбудителя бурой ржавчины пшеницы к *ThLr9* в регионах Сибири и Урала // Вторая Всерос. конф. «Современные проблемы иммунитета растений к вредным организмам». Санкт-Петербург, 29 сентября–2 октября 2008 г. СПб., 2008. С. 70–73.
- Михайлова Л.А., Гульязева Е.И., Мироненко Н.В. Методы исследования генетического разнообразия популяций возбудителя бурой ржавчины пшеницы *Puccinia recondita* Rob. ex Desm. f. sp. *tritici*. Санкт-Петербург, РАСХН, ВНИИЗР, Инновац. центр защиты растений. 2003. 24 с.
- Новожилов К.В., Левитин М.М., Михайлова Л.А., Гульязева Е.И. Принципы использования исходного материала в селекции пшеницы на устойчивость к бурой ржавчине // Вестн. РАСХН. 1998. № 1. С. 61–64.
- Сибикеев С.Н., Маркелова Т.С., Дружин А.Е. и др. Оценка набора интрогрессивных линий яровой мягкой пшеницы селекции НИИСХ Юго-Востока на устойчивость к расе стеблевой ржавчины Ug99+Sr24 (ТТКСТ) // Докл. РАСХН. 2011. Т. 2. С. 3–5.
- Скурыгина Н.А. Высокоэффективные гены устойчивости к популяциям бурой ржавчины и мучнистой росы у линий мягкой пшеницы, производных *Triticum timopheevii* Zhuk., и их дифференциация // Селекционно-генетическая характеристика: Сб. науч. тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1984. Т. 85. С. 5–13.
- Скурыгина Н.А. Интрогрессия генов устойчивости к грибным болезням и генетическая структура *Triticum timopheevii* Zhuk. // Генетические исследования злаковых культур: Сб. науч. тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1989. Т. 128. С. 21–33.
- Тырышкин Л.Г., Захаров В.Г., Сюков В.В. Сравнительная характеристика вирулентности *Puccinia recondita* Rob. ex Desm. Syn. *Puccinia triticina* Erikss. в Среднем Поволжье // Вавилов. журн. генет. и селекции. 2014. Т. 18. № 2. С. 373–377.
- Brown-Guedira G., Singh S. Disease resistance. Leaf Rust. *Lr50*. <http://maswheat.ucdavis.edu/protocols/Lr50/index.htm>.
- Cherukuri D.P., Gupta S.K., Charpe A. *et al.* Identification of a molecular marker linked to an *Agropyron elongatum*-derived gene *Lr19* for leaf rust resistance in wheat // Plant

- Breeding. 2003. V. 122. P. 204–208.
- Cherukuri D.P., Gupta S.K., Charpe A. *et al.* Molecular mapping of *Aegilops speltoides* derived leaf rust resistance gene *Lr28* in wheat // *Euphytica*. 2005. V. 143. P. 19–26.
- Gold J., Harder D., Townley-Smith F., Aung T., Procnier J. Development of a molecular marker for rust resistance genes *Sr39* and *Lr35* in wheat breeding lines // *Electron. J. Biotechnol.* 1999. V. 2. No. 1. P. 35–40.
- Gulyaeva E., Shaidayuk E., Baranova O., Sadovaya A., Khlopunova L. Diversity of *Puccinia triticina* fungus in Russia in 2002–2013 // 11th Conf. of the Eur. Foundation for Plant Pathology, Healthy plants – healthy people. 8–13 September 2014. Krakow, Poland. Book of abstracts. P. 199.
- Gupta S.K., Charpe A., Koul S. *et al.* Development and validation of molecular markers linked to an *Aegilops umbellulata*-derived leaf rust – resistance gene, *Lr9*, for marker-assisted selection in bread wheat // *Genome*. 2005. V. 48. No. 5. P. 823–830.
- Gupta S.K., Charpe A., Prabhu K.W., Haque O.M.R. Identification and validation of molecular markers linked to the leaf rust resistance gene *Lr19* in wheat // *Theor. Appl. Genet.* 2006. V. 113. P. 1027–1036.
- Hanzalová A., Huszár J., Bartoš P., Herzová E. Occurrence of wheat leaf rust (*Puccinia triticina*) races and virulence changes in Slovakia in 1994–2004 // *Biologia*. 2008. V. 63. No. 2. P. 1–4.
- Helguera M., Khan I.A., Dubcovsky J. Development of PCR markers for wheat leaf rust resistance gene *Lr47* // *Theor. Appl. Genet.* 2000. V. 101. No. 4. P. 625–631.
- Helguera M., Khan I.A., Kolmer J. *et al.* PCR assays for the *Lr37-Yr17-Sr38* cluster of rust resistance genes and their use to develop isogenic hard red spring wheat lines // *Crop Sci.* 2003. V. 43. P. 1839–1847.
- Jiang J., Friebe B., Gill B.S. Chromosome painting of Amigo wheat // *Theor. Appl. Genet.* 1994. V. 89. No. 7/8. P. 811–813.
- Kim W., Jonson P.S., Baenziger P.S. *et al.* Agronomic effect of wheat-rye translocation carrying rye chromatin (1R) from different sources // *Crop Sci.* 2004. V. 44. P. 1254–1258.
- Mago R., Bariana H.S., Dundas I.S. *et al.* Development of PCR markers for the selection of wheat stem rust resistance genes *Sr24* and *Sr26* in diverse wheat germplasm // *Theor. Appl. Genet.* 2005. V. 111. P. 496–504.
- Marais G.F., Bekker T.A., Eksteen A., McCallum B., Fetch T., Marais A.S. Attempts to remove gametocidal genes co-transferred to common wheat with rust resistance from *Aegilops speltoides* // *Euphytica*. 2009. V. 171. P. 71–85.
- McIntosh R.A., Wellings C.R., Park R.F. Wheat rust: An atlas of resistance genes // *Csiro Publishing*. 1995. 200 p.
- McIntosh R.A., Dubcovsky J., Rogers W.J. *et al.* Catalogue of gene symbols // Wheat genetic resources database KOMUGI. 2012. <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/download.jsp>
- Mesterházy Á., Bartoš P., Goyeau G., Niks R. *et al.* European virulence survey for leaf rust in wheat // *Agronomie*. 2000. V. 20. P. 793–804.
- Peterson R.F., Cambell A.B., Hannah A.E. A diagrammatic scale for estimating rust intensity on leaves and stems of cereals // *Can. J. Res.* 1948. V. 26. P. 496–500.
- Prabhu K.V., Gupta S.K., Charpe A., Koul S. SCAR marker tagged to the alien leaf rust resistance gene *Lr19* uniquely marking the *Agropyron elongatum*-derived gene *Lr24* in wheat: a revision // *Plant Breeding*. 2004. V. 123. P. 417–420.
- Procnier J.D., Townley-Smith T.F., Fox S. *et al.* PCR-based RAPD/DGGE markers linked to leaf rust resistance genes *Lr29* and *Lr25* in wheat (*Triticum aestivum* L.) // *J. Genet. Breeding*. 1995. V. 49. P. 87–92.
- Serfling A., Krämer I., Lind V. *et al.* Diagnostic value of molecular markers for *Lr* genes and characterization of leaf rust resistance of German winter wheat cultivars with regard to the stability of vertical resistance // *Eur. J. Plant Pathol.* 2011. V. 130. No. 4. P. 559–575.
- Seyfarth R., Feuillet C., Schachermayr G., Winzeler M., Keller B. Development of a molecular marker for the adult plant leaf rust resistance gene *Lr35* in wheat // *Theor. Appl. Genet.* 1999. V. 99. P. 554–560.
- Zeven A.C. Wheats with purple and blue grains: a review // *Euphytica*. 1991. V. 56. P. 243–258.
- Zhemchuzhina A., Kurkova N. Structure of population of *Puccinia triticina* in various regions of Russia in 2006–2008 // *Proc. of the BGRI Technical Workshop*, May 30–31, 2010. St. Petersburg, Russia. P. 27.
- Weng Y., Azhaguvel P., Devkota R.N., Rudd J.C. PCR-based markers for detection of different sources 1AL. 1RS and 1BL. 1RS wheat-rye translocations in wheat background // *Plant Breeding*. 2007. V. 126. P. 482–486.

**LEAF RUST RESISTANCE IN COMMON WHEAT VARIETIES
AND LINES FROM THE COLLECTION
OF THE VAVILOV PLANT INDUSTRY INSTITUTE
CARRYING ALIEN GENETIC MATERIAL**

**A.S. Sadovaya¹, E.I. Gulyaeva¹, O.P. Mitrofanova², E.L. Shaidayuk¹,
A.G. Hakimova², E.V. Zuev²**

¹ All-Russia Institute of Plant Protection, St.-Petersburg, Russia,
e-mail: gullena@rambler.ru;

² Vavilov Institute of Plant Industry, St.-Petersburg, Russia

Summary

Leaf rust resistance was estimated in 83 common wheat accessions from the collection of the Vavilov Institute carrying alien genetic material. Eight accessions with seedling resistance and 27 accessions with adult plant resistance were found. Analysis with molecular markers revealed genes highly and moderately efficient in Russia – *Lr24*, *Lr39*, *Lr21*, and *Lr37* – and a rye translocation 1AL.1RS. The samples accessions effective *Lr* genes are promising donors in Russian breeding programs. Lines raised with the use of *T. timopheevii* were heterogeneous for resistance. No molecular markers of the *Lr50* gene known for this species were detected there. These lines demand further examination and selection.

Key words: common wheat, leaf rust, resistance, molecular markers, *Lr* genes, alien genetic material.