

УДК 632.3:633.1

UDC 632.3:633.1

06.00.00 Сельскохозяйственные науки

Agricultural sciences

**ГИБРИДОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ
УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ОЗИМОЙ
МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ К *P. triticina*****HYBRIDOLOGICAL ANALYSIS OF PLANT
RESISTANCE OF WINTER WHEAT TO *P.
triticina***

Бойко Александр Петрович

Boyko Aleksandr Petrovich

к. с-х., н., aos.vir@mail.ru

Cand.Agr.Sci., ID 277180

ID 277180

aos.vir@mail.ru

*Федеральный исследовательский центр
Всероссийский институт генетических ресурсов
растений им. Н.И. Вавилова, Филиал Адлерская
опытная станция ВИР (Адлер), Россия*

*Institute of Plant Industry, Vavilov Institute of Plant
Industry, Branch of the Adler experiment station of
VIR (Adler), Russia*

В статье рассматривается гибридологический анализ наследования устойчивости растений озимой мягкой пшеницы к патогену бурой ржавчины. Для этой цели проведен анализ на сортах пшеницы местной селекции, изучена иммунологическая реакция к *P. triticina* в связи с типами устойчивости пшеницы к возбудителю бурой ржавчины. В работе учитывались различные иммунологические показатели (тип реакции растений на внедрение патогена, интенсивность поражения растений, размер урединиопустул, количество урединиоспор в одной урединиопустуле, величина периода от момента инокуляции до начала появления первых урединиопустул (т.е. величина латентного периода), а также площадь под кривой развития болезни). Изучение наследования типа реакции растений на внедрение патогена методом гибридологического анализа показало, что эта иммунологическая реакция может контролироваться как доминантными, так и рецессивными генами. Моногенный контроль устойчивости в наших исследованиях встречался довольно редко и установлен у сортов TAM 200 и Purdue 5396. Показано, что у большинства изученных нами линий тип реакции растений на внедрение возбудителя бурой ржавчины контролируется, как правило, несколькими генами с различными типами взаимодействия. Результаты гибридологического анализа позволяют сделать вывод о том, что тип реакции растений на внедрение паразита – интегральный показатель, учитывающий морфологические особенности проявления урединиопустул (размер и количество образующихся в них урединиоспор)

The article discusses the hybridological analysis of the inheritance of plant resistance of winter wheat to brown rust Putignano. For this purpose, we performed the analysis on the varieties of wheat of local selection, studied immunological reaction to *R. triticina* in connection with the types of wheat resistance to leaf rust pathogen. In the work, we considered the different immunological parameters (type of plant response to the introduction of the pathogen, the intensity of infection of plants, the size of urediniospores, the number of urediniospores in one urediniomycetes, the amount of time from the time of inoculation until the beginning of the first urediniomycetes (i.e. a measure of latent period) and the area under the curve of disease development). Study of the inheritance of the type of plant responses to the introduction of the pathogen by the method of hybridological analysis revealed that this immunological reaction can be controlled by both dominant and recessive genes. Monogenic control of resistance in our study was fairly uncommon and installed from THERE 200 varieties and Purdue 5396. It is shown that the majority of the examined lines type of plant response to the introduction of the leaf rust pathogen is controlled, as a rule, several genes with different types of interaction. The results of hybridological analysis allow to draw a conclusion about what type of plant response to the introduction of the parasite – an integral indicator that takes into account the morphological peculiarities of urediniomycetes (the size and number of urediniospores produced in them)

Ключевые слова: БУРАЯ РЖАВЧИНА, ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ, ПАТОГЕН, ГИБРИДОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ, ПОРАЖЕНИЕ РАСТЕНИЯ

Keywords: LEAF RUST, IMMUNOLOGICAL RESISTANCE, PATHOGEN, HYBRIDOLOGICAL ANALYSIS, INFECTED PLANTS

Одним из наиболее важных факторов, способных дестабилизировать валовые сборы зерна, снизить урожайность культуры озимой пшеницы являются паразитические организмы, из которых наиболее опасными являются возбудители ржавчины (*Puccinia triticina*, *P.striiformis*, *P.graminis*). Возбудитель бурой ржавчины (*Puccinia triticina*) в годы самых жестких эпифитотий может вызывать недобор урожая, редко превышающий 30% [1]. Согласно концепции Я.Е. Ван дер Планк существует два типа устойчивости [2]. Основываясь на данных литературы, были показаны противоречия, возникающие при рассмотрении данной концепции с позиций длительного сохранения сортами этого свойства, а также количества генов, обуславливающих фенотипическое проявление слабой или умеренной поражённости сортов. Показано, что продолжительность жизни устойчивости, или её стабильность, зависит не от количества генов, определяющих слабую или умеренную восприимчивость растений к патогену, а от характера взаимоотношений между генами устойчивости хозяина и вирулентности паразита [4,6,8,9,10]. Следует отметить, что точное определение количества генов, контролирующей устойчивость растений к паразиту, всецело зависит от разрешающей способности метода генетического анализа.

В настоящей работе представлены результаты исследований характера наследования иммунологических реакций к *P. triticina* в связи с типами устойчивости пшеницы к возбудителю бурой ржавчины.

Изначально нами была проведена классификация сортов по предполагаемым типам устойчивости на основании многолетних исследований иммунологических испытаний устойчивости и родословной сортов и линий. Определение характера наследования, а также количества генов, определяющих то или иное фенотипическое проявление иммунологических свойств, проводилось с использованием

гибридологического и диаллельного методов генетического анализа. При этом, в зависимости от целей экспериментов, учитывались различные иммунологические показатели (тип реакции растений на внедрение патогена, интенсивность поражения растений, размер урединиопустул, количество урединиоспор в одной урединиопустуле, величина периода от момента инокуляции до начала появления первых урединиопустул (т.е. величина латентного периода), а также площадь под кривой развития болезни) [2,3].

В практической работе по созданию сортов, устойчивых к возбудителям заболеваний, практически всегда возникает ряд вопросов о характере наследования устойчивости (доминантный, рецессивный), количестве генов обуславливающих устойчивость на различных этапах онтогенеза, их сцепленности, характере взаимодействия (комплиментария, эпистаз, независимое действие и др.), аллельности и ряд других вопросов, от ответа на которые зависит характер и схема отбора в гибридных популяциях.

Изучение наследования типа реакции растений на внедрение патогена методом гибридологического анализа показало, что эта иммунологическая реакция может контролироваться как доминантными, так и рецессивными генами (таблица 1).

Таблица 1 – Результаты гибридологического анализа устойчивости сортов и линий озимой мягкой пшеницы в фазу молочно-восковой спелости к изолятам *P. triticina*

Комбинация скрещивания	Моно-изолят	Расщепление F ₂				χ ²	
		классы устойчивости				фактическое	табличное
		R/R	S/R	R/S	S/S		
ТАМ 200/Кавказ	1/77	257	84	3	1	0,02	3,84
Purdue 5396/Шарада	71/80	817	239	3	1	3,16	3,84
Purdue 5396/Кавказ	71/80	523	168	3	1	0,17	3,84
Веда/Мироновская 808	1/77	207	93	45	19	0,24	3,84
Веда/Крошка	1/77	97	32	3	1	0,001	3,84
215р3-1 Мироновская 808	1/77	146	120	9	7	0,21	3,84
ТАМ 200/Юна// Краснодарская 99	71/80	112	171	27	37	0,79	3,84
1120я16/Вита// Краснодарская 99	71/80	156	195	7	9	0,07	3,84

Моногенный контроль устойчивости в наших исследованиях встречался довольно редко и установлен у сортов ТАМ 200 и Purdue 5396. Аллельность генов этих сортов прямыми методами генетического анализа не проверена. Однако косвенные данные позволяют предположить, что они не аллельны. Так, используемые изоляты *P. triticina* при анализе обладали различной вирулентностью по отношению к этим сортам. Можно предположить, что устойчивость сорта Purdue 5396 контролируется геном, переданным от ржи (о чем свидетельствует электрофоретический спектр запасных белков, в частности глиадина). Скрещивание сортов Шарада и Purdue 5396 приводит к увеличению доли устойчивых растений в расщепляющейся популяции, по сравнению с комбинацией скрещивания Purdue5396/Кавказ, приближаясь к теоретически ожидаемому 13 (R) : 3 (S). В связи с этим можно предположить наличие у Purdue5 396 нескольких

генов устойчивости. Однако, фитопатологический анализ устойчивых линий, полученных от скрещивания сортов Purdue 5396 и TAM 200 с сортом Шарада, показал, что этот вывод был ошибочен, а увеличение доли устойчивых растений связано с генотипом сорта Шарада. Последний сорт во все годы проведения экспериментов сильно поражался возбудителем бурой ржавчины. Сорт TAM 200 проявлял высокий уровень устойчивости. В 2004 году было отмечено сильное поражение обоих сортов. В то время гомозиготная линия, полученная от скрещивания сортов TAM 200/Шарада, сохранила высокий уровень устойчивости.

Полученные результаты подтверждают высказывание Э.Э. Гешеле (1971) о том, что совершенно беззащитных сортов нет. И восприимчивые сорта отечественной селекции могут обладать генами, которые при взаимодействии с другими генами устойчивости могут продлевать их жизнь в новых сортах [7,9].

У большинства изученных нами линий тип реакции растений на внедрение возбудителя бурой ржавчины контролируется, как правило, несколькими генами с различными типами взаимодействия. У сорта Веда, при анализе расщепления в фазу молочно-восковой спелости, установлено, что устойчивость к возбудителю бурой ржавчины контролируется тремя генами. Скрещивание его с сортом Крошка показало, что различия в контроле устойчивости моногенны. Следовательно, сорт Крошка обладает двумя доминантными генами устойчивости. И эти два гена обеспечивали его устойчивость на протяжении многих лет при широком возделывании данного сорта в производстве.

В остальных скрещиваниях наблюдалось ди- и тригибридное расщепление с различными типами взаимодействия генов. Так, в ювенильной фазе тип реакции растений на внедрение патогена у линии 127p55 (TAM 200/Юна) контролируется двумя эпистатичными, а в фазу молочно-восковой спелости – двумя доминантными комплементарными

генами; у линии 176p3 (Centurk/Юна) тип реакции растений на внедрение *P. triticina* в фазу всходов контролируется двумя эпистатичными генами, а в фазу молочно-восковой спелости – тремя доминантными комплементарными генами; у линии 193p52 (1120я16/Княжна) установлен моногенный контроль устойчивости в фазу всходов и дигенный в фазу молочно-восковой спелости.

В одном случае у линии 176p3 (Centurk/Юна) отмечено полимерное действие четырёх рецессивных генов в фазу молочно-восковой спелости.

У некоторых линий был изучен характер наследования интенсивности поражения растений в фазу молочно-восковой спелости методом гибридологического анализа (таблица 1). Анализ полученных данных показал, что количественные реакции устойчивости у линий 127p60 и 126p55 контролируются одним доминантным, а у линий 176p3 (Centurk/Юна) и 193p52 (1120я16/Княжна) двумя доминантными генами с комплементарным эффектом взаимодействия. Различия в характере наследования, а также несоответствие расщепления по типу реакции растений в фазу молочно-восковой спелости и в фазу проростков к возбудителю бурой ржавчины побудили нас изучить вопрос об аллельности генов, ответственных за эти иммунологические показатели (таблица .2, .3). В связи с этим мы попытались установить следующее:

- 1) идентичность (или неидентичность) генов, контролирующих устойчивость на различных этапах онтогенеза;
- 2) идентичность (или неидентичность) генов, ответственных за проявление качественных и количественных показателей устойчивости.

Результаты экспериментов (таблица 2) показали, что у всех изученных линий 127p60, 126p55 и 193p52 в процессе онтогенеза происходит смена генетического контроля устойчивости.

Таблица .2 – Результаты гибридологического анализа устойчивости озимой мягкой пшеницы по типу реакции растений на внедрение патогена в фазы всходов (вс)и молочно-восковой спелости (вмс)

Комбинация скрещивания	Изо-лят	Соотношение растений в F ₂								χ^2	
		фактическое/теоретически ожидаемое									
		вс/вмс	R/R	R/S	S/R	S/S	R/R	R/S	S/R		S/S
127p60/Мир.808	1/77	вмс	66	53	80	67	63	49	81	63	0,63
126p55/Краснодарская99	71/80		25	33	86	139	81	111	351	484	1,98
193p52/Краснодарская 99	71/80		163	112	42	34	27	21	9	7	3,17

Табличное значение χ^2 (P_{0,05})=7,815

Таким образом, возделывание сортов, полученных на основе этих (или подобных) источников устойчивости, будет приводить к изменению вирулентности популяции *P. triticina* в течение одного вегетационного сезона (осень-лето), что приведёт к уменьшению количества вирулентного к данным сортам инокулюма. Механизм уменьшения количества вирулентного инокулюма в данном случае довольно прост. Поражение сортов на начальных этапах онтогенеза растений приведёт к увеличению в популяции паразита количества особей со специфической вирулентностью. Изменение генетического контроля устойчивости делает недоступными для основной массы популяции паразита ресурсы питания. Кроме того, попадая на ткань защищённую генами, которые паразит не может преодолеть, он вызовет реакцию некрозообразования. Резюмируя, можно утверждать, что изменение генетического контроля будет уменьшать скорость развития эпифитотии.

Результаты экспериментов (таблица 3) показали, что у линий 127p60 и 126p55, гены, контролирующие качественные и количественные реакции устойчивости, либо тесно сцеплены, либо контроль осуществляется одними и теми же генами.

Таблица 5.3 - Гибридологический анализа устойчивости озимой мягкой пшеницы к *P. triticina* по типу реакции и интенсивности поражения в фазу молочно-восковой спелости

Комбинация скрещивания	Изоляты	Соотношение растений в F ₂								χ^2	
		фактическое/теоретически ожидаемое									
		T*/И**	R/R	R/S	S/R	S/S	R/R	R/S	S/R		S/S
L.Rojo/Кавказ//Мир.808	1/77	И**	180	21	-	65	27	7	9	21	86,3
Carifen12/Шторм//Од.26	71/80		145	-	71	67	81	27	102	46	84,8
Centurk/Шторм//Од.26	71/80		1	-	203	179	9	7	2295	1785	2,19
Тр354/Черноморская//Од.26	71/80		140	32	47	132	27	7	9	21	4,21

Табличное значение χ^2 (P_{0,05})=7,815

T* - тип реакции, И** - интенсивность поражения

У линии 193p52 при контроле этих свойств независимыми генами можно было ожидать расщепление, соответствующее тетрагибридному (соотношение R/R : R/S : S/R : S/S = 63 : 49 : 81 : 63). Фактически наблюдаемое соотношение растений соответствовало тригибридному расщеплению (таблица 5.3). Вероятно, что у линии 193p52 один из генов контролирует качественные реакции устойчивости, второй – количественные, третий – качественные и количественные. Вполне возможно, что третий ген – это два тесно сцепленных гена, образующий блок генов или «изофен». У линии 176p3 наблюдалось расщепление, соответствующее наследованию двух пар независимых генов.

Предположив, что такие признаки как площадь одной урединиопустулы и количество продуцируемых одной пустулой урединиоспор может контролироваться большим количеством генов с полимерным эффектом действия, мы попытались изучить характер

наследования этих признаков в гибридной популяции F₂ ТАМ 200/Шарада//Мироновская 808. Расщепление по трём признакам устойчивости представлено в таблице 4.

Таблица 4 – Характер расщепления озимой мягкой пшеницы в гибридной популяции F₂ ТАМ 200/Шарада//Мироновская 808, фаза проростков, искусственное заражение

Признак	Характер расщепления				χ^2	
	фактическое		теоретически ожидаемое		факт.	достоверно при
	R	S	R	S		
Тип реакции	110	137	108,1	138,9	0,034	p < 0,05
Размер пустул	182	65	185,8	61,2	0,485	"-
Количество спор в пустуле	179	68	185,8	61,2	1,004	"-

Характер расщепления показывает, что количественные признаки, такие как размер урединиопустул и количество образовавшихся в них урединиоспор, контролируются моногенно. В то же время, расщепление по типу реакции растений на внедрение патогена указывает на дигенный контроль этого иммунологического показателя.

Таким образом, результаты гибридологического анализа позволяют сделать вывод о том, что тип реакции растений на внедрение паразита – интегральный показатель, учитывающий морфологические особенности проявления урединиопустул (размер и количество образующихся в них урединиоспор).

Литература

1. Беспалова Л.А., Аблов И.Б., Колесников Ф.А. и др. Развитие наследия академика П.П. Лукьяненко по генетической борьбе с ржавчинными болезнями пшеницы // Земледелие. 2011. - №4. - С. 16-19.
2. Бойко А.П. Мониторинг развития эпифитотии *Puccinia triticina* rob. Ex desm f. Sp. Triticici erikss. Et henn. У сортов и линий озимой пшеницы / А.П. Бойко // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ) [Электронный ресурс]. – Краснодар: КубГАУ, 2016. – №04(118). С. 1587 – 1598. – IDA [article ID]: 1181604104. – Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/2016/04/pdf/104.pdf>, 0,75 у.п.л.
3. Бойко А.П. Подходы к обоснованию экспертной системы при развитии эпифитотии на посевах озимой пшеницы / А.П. Бойко // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ) [Электронный ресурс]. – Краснодар: КубГАУ, 2016. – №04(118). С. 1576 – 1586. – IDA [article ID]: 1181604103. – Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/2016/04/pdf/103.pdf>, 0,688 у.п.л.
4. Вавилов Н. И. Пути советской селекции // Избранные труды : в 5 т. — М.; Л.: Наука, 1965. — Т. 5 : Проблемы происхождения, географии, генетики, селекции растений и агрономии.
5. Ван Дер Планк Я. Устойчивость растений к болезням. М. «Колос», 1972.- 253 с.
6. Воронкова А.А. Генетико-иммунологические основы селекции пшеницы на устойчивость к ржавчине. – М.: Колос, 1980. - 191с.
7. Гешеле. Э. Э. Основы фитопатологической оценки в селекции растений. М. «Колос», 1978. - 208с.
8. Лукьяненко П.П. О методике селекции сортов озимых пшениц, устойчивых к бурой ржавчине // Яровизация, 1941. - №3. –С.38-47.
9. Лукьяненко П.П. Новые ржавчино-устойчивые сорта озимой пшеницы // Селекция и семеноводство, 1933. – №2. – С.34.
10. Михайлова Л.А. Генетика ржавчинных грибов в связи с селекцией зерновых культур на болезнеустойчивость. /Сб. «Ржавчина хлебных злаков». М. «Колос», 1975, с.67-79.
11. McIntosh R.A., Brown G.N. Anticipatory breeding for resistance to rust diseases in wheat. /Ann. Rev. Phytopathology, 35, 1997, p.311-326.
12. Poyntz B., Hyde P.M. The expression of partial resistance of wheat to *Puccinia recondit*. L. Phytopathology, 1987. V.12. -P.136-142.

References

1. Bespalova L.A., Ablov I.B., Kolesnikov F.A. i dr. Razvitie nasledija akademika P.P.Luk'janenko po geneticheskoj bor'be s rzhavchinnyimi boleznyami pshenicy // Zemledelie. 2011. - №4. - S. 16-19.
2. Bojko A.P. Monitoring razvitija jepifitotii puccinia triticina rob. Ex desm f. Sp. Triticici erikss. Et henn. U sortov i linij ozimoy pshenicy / A.P. Bojko // Politematicheskij setevoj jelektronnyj nauchnyj zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta (Nauchnyj zhurnal KubGAU) [Jelektronnyj resurs]. – Krasnodar: KubGAU, 2016. – №04(118). S. 1587 – 1598. – IDA [article ID]: 1181604104. – Rezhim dostupa: <http://ej.kubagro.ru/2016/04/pdf/104.pdf>, 0,75 u.p.l.

3. Bojko A.P. Podhody k obosnovaniju jekspertnoj sistemy pri razvitii jepifitotii na posevah ozimoy pshenicy / A.P. Bojko // Politematicheskij setevoy jelektronnyj nauchnyj zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta (Nauchnyj zhurnal KubGAU) [Jelektronnyj resurs]. – Krasnodar: KubGAU, 2016. – №04(118). S. 1576 – 1586. – IDA [article ID]: 1181604103. – Rezhim dostupa: <http://ej.kubagro.ru/2016/04/pdf/103.pdf>, 0,688 u.p.l.
4. Vavilov N. I. Puti sovetskoj selekcii // Izbrannye trudy : v 5 t. — M.; L.: Nauka, 1965. — T. 5 : Problemy proishozhdenija, geografii, genetiki, selekcii rastenij i agronomii.
5. Van Der Plank Ja. Ustojchivost' rastenij k boleznjam. M. «Kolos», 1972.- 253 s.
- Voronkova A.A, Genetiko-immunologicheskie osnovy selekcii pshenicy na ustojchivost' k rzhavchine. – M.:Kolos, 1980. - 191s.
6. Geshele. Je. Je. Osnovy fitopatologicheskoy ocenki v selekcii rastenij. M. «Kolos», 1978. - 208s.
- 7.. Luk'janenko P.P. O metodike selekcii sortov ozimyh pshenic, ustojchivyh k buroj rzhavchine //Jarovizacija, 1941. - №3. –S.38-47.
8. Luk'janenko P.P. Novye rzhavchino-ustojchivye sorta ozimoy pshenicy //Selekcija i semenovodstvo, 1933. – №2. – S.34.
9. Mihajlova L.A. Genetika rzhavchinnyh gribov v svjazi s selekciej zernovyh kul'tur na bolezneustojchivost'. /Sb. «Rzhavchina hlebnyh zlakov». M. «Kolos», 1975, s.67-79.
- 10.Odum Ju. Jekologija.M.: Mir, 1975. – 345s.
11. McIntosh R.A., Brown G.N. Anticipatory breeding for resistance to rust diseases in wheat. /Ann. Rev. Phytopathology, 35, 1997, p.311-326.
12. Poyntz B., Hyde P.M. The expression of partial resistance of wheat to *Puccinia recondit*. L. Phytopathology, 1987. V.12. -P.136-142.