

Доноры эффективных генов устойчивости ячменя к ринхоспориозу

DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-141-145

УДК 633.16:581.573.4

Поступление/Received: 07.02.2020

Принято/Accepted: 21.09.2020



Donors of effective genes for scald resistance in barley

G. S. KONOVALOVA, E. E. RADCHENKO

Г. С. КОНОВАЛОВА, Е. Е. РАДЧЕНКО

Федеральный исследовательский центр
Всероссийский институт генетических ресурсов
растений имени Н.И. Вавилова,
190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44
 konovalova.g.s@gmail.com

N.I. Vavilov All-Russian Institute
of Plant Genetic Resources,
42, 44 Bolshaya Morskaya Street,
St. Petersburg 190000, Russia
 konovalova.g.s@gmail.com

Актуальность. Одним из наиболее распространенных заболеваний ячменя во всех зонах его возделывания является ринхоспориоз. Для возбудителя болезни *Rhynchosporium commune* Zaffarano, B.A. McDonald & A. Linde (ранее – *Rhynchosporium secalis* (Oudem.) J.J. Davis) характерен высокий уровень изменчивости, что обуславливает появление новых патотипов и потерю устойчивости ряда сортов. Большая часть рекомендованных к возделыванию сортов ячменя сильно поражается патогеном. Цель исследований – поиск новых доноров эффективных генов устойчивости ячменя к *R. commune*. **Материалы и методы.** В лабораторных и полевых экспериментах исследовали устойчивость к грибу 99 образцов местного ячменя из 18 стран мира. Растения инокулировали изолятами патогена, выделенными из северо-западной (Ленинградская область) популяции *R. commune*. Устойчивость растений оценивали с использованием балловых шкал. У выделившихся форм с помощью гибридологического анализа изучили генетический контроль устойчивости к грибу. **Результаты и выводы.** Выделили три образца местного ячменя, которые сохраняли высокую устойчивость к грибу в течение шести лет изучения в поле при инокуляции разными популяциями *R. commune*. Образцы к-31503 (Индия), к-31504 (Македония) и к-31505 (Эфиопия) имеют гены устойчивости к *R. commune*, которые различаются между собой, не аллельны эффективному гену *Rrs9* и проявляются на протяжении всех этапов органогенеза растений. Образцы к-31504 и к-31505 несут по два рецессивных гена устойчивости к патогену, к-31503 защищен тремя рецессивными генами.

Ключевые слова: *Hordeum vulgare*, *Rhynchosporium commune*, вирулентность, образцы местного ячменя, гибридологический анализ.

Background. One of the most harmful diseases of barley in all areas of its cultivation is scald. The causal agent *Rhynchosporium commune* Zaffarano, B.A. McDonald & A. Linde (formerly – *Rhynchosporium secalis* (Oudem.) J.J. Davis) is characterized by a high level of variability, which leads to the emergence of new pathotypes and the loss of resistance of a number of cultivars. Most barley cultivars recommended for cultivation are highly affected by the pathogen. The aim of the study was to find new donors of effective barley resistance genes to *R. commune*. **Materials and methods.** Resistance to the fungus was tested in 99 accessions of barley landraces from 18 countries under laboratory and field conditions. The experiments employed isolates and clones of *R. commune* isolated from plants collected in Leningrad Province. Plant resistance was scored using point scales. Genetic control of fungal resistance was studied in the selected accessions using hybridological analysis. **Results and conclusions.** We identified 3 accessions of barley landraces, which retained high resistance to the fungus for six years of study in the field under inoculation with different populations of *R. commune*. Accessions k-31504 (Macedonia), k-31505 (Ethiopia) and k-31503 (India) are protected by *R. commune* resistance genes, which differ from each other, are not allelic to the previously identified effective *Rrs9* gene, and manifest themselves throughout all stages of barley ontogenesis. Each of accessions k-31504 and k-31505 incorporates 2 recessive pathogen resistance genes; k-31503 carries 3 recessive resistance genes.

Key words: *Hordeum vulgare*, *Rhynchosporium commune*, virulence, landraces, hybridological analysis.

Введение

На посевах ячменя (*Hordeum vulgare* L.) в России широко распространен и вредоносен ринхоспориоз, вызываемый гембиотрофным патогеном *Rhynchosporium commune* Zaffarano, B.A. McDonald & A. Linde (ранее – *Rhynchosporium secalis* (Oudem.) J.J. Davis). При раннем поражении растений грибом существенно уменьшаются продуктивная кустистость и масса семян, при этом потери урожая достигают 40% (McDonald et al., 1999; Carisse et al., 2000; Robbertse et al., 2000). Для *R. commune* характерна высокая изменчивость (Tekauz, 1991; Jørgensen,

Smedegaard-Petersen, 1995). Половая стадия *R. commune* не выявлена, а вариабельность гриба обеспечивается за счет высокой мутабельности, соматической рекомбинации и чередования растений-хозяев. В результате этого в популяциях гриба отбираются и накапливаются новые фенотипы вирулентности, преодолевающие гены устойчивости растений. Большая часть рекомендованных к возделыванию сортов ячменя сильно поражаются патогеном. В литературе описано от 14 до 17 генов устойчивости *H. vulgare* к ринхоспориозу (Bjørnstad et al., 2002; Hanemann et al., 2009), однако почти все идентифицированные гены неэффективны против российских популя-

ций *R. commune*. Изучение степени поражения почти изогенных линий ячменя (NIL) в Северо-Западном регионе России показало, что лишь одна линия с геном устойчивости *Rrs9* сохраняет высокую эффективность (Konovalova, Soboleva, 2010).

Возможность приспособления гриба к питающему растению обуславливает необходимость постоянного поиска новых источников устойчивости среди коллекционных образцов ячменя. Результаты наших опытов свидетельствуют, что местные формы *H. vulgare* являются довольно богатым источником пополнения запаса эффективных генов устойчивости к патогену. Так, с помощью гибридологического анализа показано, что образцы из Китая к-15868 и к-3481 имеют по два комплементарных рецессивных гена устойчивости к *R. commune*, к-18989 – два рецессивных гена, а образец к-3307 – один рецессивный ген устойчивости к патогену (Soboleva et al., 2016). Образцы местного ячменя к-16233, к-27205 (Китай), к-27768 (Индия) и к-22299 (Эквадор) защищены эффективными генами устойчивости к ринхоспориозу, которые различаются между собой и не аллельны эффективному гену *Rrs9*. Показано, что образцы к-16233, к-27768 и к-22299 имеют по два доминантных гена устойчивости к *R. commune*, образец к-27205 защищен одним доминантным геном. Гены устойчивости у этих форм проявляются в течение всего онтогенеза ячменя (Konovalova, Radchenko, 2018).

Цель работы – осуществить поиск источников устойчивости к *R. commune* среди образцов местного ячменя, переданных во Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР) Международным центром сельскохозяйственных исследований в засушливых районах (ICARDA, Сирия), и у выделившихся форм исследовать генетический контроль устойчивости к патогену.

Материалы и методы

В лабораторных условиях оценили ювенильную устойчивость к *R. commune* 99 образцов местного ячменя из 18 стран мира, поступивших в коллекцию ВИР из ICARDA в 2010 г. В данный набор вошли преимущественно ячмени Китая (23 образца), Эфиопии (14), Турции (11), Чехии (14) и Македонии (12); материал из остальных стран был представлен 1–4 формами. Выделившиеся в лаборатории образцы оценивали в поле на искусственном инфекционном фоне.

Растения инокулировали изолятами и моноспоровыми культурами *R. commune*, выделенными из северо-западной популяции патогена (Санкт-Петербург, Пушкин; Рождествено Ленинградской области). Изоляцию, клонирование и культивирование гриба проводили на картофельно-глюкозном агаре; растения заражали 14-дневной культурой *R. commune* (Konovalova, 2008).

Для оценки устойчивости растений в фазе всходов применяли метод заражения отрезков листьев на поверхности 1-процентного агара, содержащего 0,005-процентный раствор бензимидазола. На отрезки листьев наносили капли суспензии спор *R. commune* (500–700 тыс. конидий в 1 мл). Через три недели после заражения листьев учитывали типы реакции растений по шкале от 0 (отсутствие симптомов заболевания) до 4 (окаймленный некроз, занимающий всю поверхность отрезка листа). Реакции устойчивости соответствует поражение листьев, не превышающее балл 2, реакции восприимчивости – 3 и 4 балла (Konovalova, 2008).

В период «кущение – выход в трубку» растения в поле поздно вечером опрыскивали суспензией спор гриба (500 тыс. конидий в 1 мл) и на 12 ч накрывали полиэтиленом. Степень развития болезни учитывали по шкале от 0 (отсутствие симптомов) до 5 (сливающиеся некрозы с хлорозом по всей поверхности листа, отмирание листьев нижних ярусов). Поражение до 2 баллов (не более 30% поверхности листьев нижнего яруса) соответствует реакции устойчивости, 3–5 – реакции восприимчивости (Konovalova, 2008).

С целью изучения генетического контроля устойчивости к *R. commune* выделенные образцы скрещивали на поле научно-производственной базы «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР» (Санкт-Петербург, Пушкин). Для определения числа генов резистентности провели скрещивание образцов с восприимчивым к патогену сортом 'Cambrinus'. Для исследования аллельных отношений генов устойчивости выделенные образцы скрещивали друг с другом, с почти изогенной линией NIL 9, защищенной эффективным геном *Rrs9*, а также с образцами к-27768 (Индия) и к-22299 (Эквадор), которые имеют по два эффективных доминантных гена устойчивости (Konovalova, Radchenko, 2018).

Гибридологический анализ проводили в поле, изучая поколения F_1 и F_2 на фоне искусственного заражения растений 23 изолятами, выделенными из двух популяций (Санкт-Петербург, Пушкин; Рождествено) *R. commune*. Гибриды оценивали в период, когда поражение сорта 'Cambrinus' достигало четырех баллов. К устойчивому классу относили растения, тип реакции которых соответствовал баллам 0–2, к восприимчивому – 3–5. Соответствие фактически полученных данных теоретически ожидаемым проверяли с помощью критерия χ^2 .

Результаты и обсуждение

В результате лабораторных исследований выявили 18 образцов с ювенильной устойчивостью к патогену. После полевого испытания устойчивыми во взрослом состоянии оказались лишь семь образцов. Некоторые формы были гетерогенны: отдельные растения характеризовались восприимчивостью или частичной устойчивостью к грибу. Для дальнейшей работы собирали семена, только со здоровых растений. Среди семи выделенных образцов только три (к-31504, Македония; к-31505, Эфиопия, к-31503, Индия) сохраняли устойчивость в течение шести лет изучения в поле при инокуляции разными популяциями *R. commune*.

Растения F_1 от скрещивания всех трех выделенных образцов с чувствительным тестером 'Cambrinus' оказались восприимчивыми, то есть устойчивость контролируется рецессивными генами. Расщепление по дигибридной схеме (по два рецессивных гена устойчивости) выявили в гибридных популяциях F_2 к-31504 × Cambrinus и к-31505 × Cambrinus (табл. 1). В F_2 к-31503 × Cambrinus соотношение устойчивых (R) и восприимчивых (S) соответствовало теоретически ожидаемому при контроле признака тремя рецессивными генами.

Изучили аллельные отношения генов устойчивости к *R. commune* у изучаемых образцов (табл. 2). В комбинациях скрещивания к-31503 × к-31505, к-31503 × к-31504 и к-31504 × к-31505 выявлено расщепление по изучаемому признаку, что указывает на различие генов устойчивости у этих образцов. В F_2 от скрещивания образца к-31503 с к-31504 наблюдали расщепление по

Таблица 1. Расщепление по устойчивости к *Rhynchosporium commune* F₂ гибридов от скрещивания устойчивых образцов с чувствительным тестером**Table 1.** Segregation for resistance to *Rhynchosporium commune* in F₂ hybrids from crossing between resistant accessions and a susceptible cultivar

| Комбинация скрещивания | Соотношение фенотипов R : S | | χ^{2*} | Вероятность Р |
|------------------------|-----------------------------|-----------|-------------|---------------|
| | фактическое | ожидаемое | | |
| к-31504 × Cambrinus | 104 : 137 | 7 : 9 | 0,035 | 0,80 – 0,90 |
| к-31505 × Cambrinus | 112 : 133 | 7 : 9 | 0,384 | 0,50 – 0,75 |
| к-31503 × Cambrinus | 95 : 63 | 37 : 27 | 0,347 | 0,50 – 0,75 |

* – Здесь и в таблицах 2 и 3 $\chi^2_{0,05} = 3,84$ * – Here, as in Tables 2 and 3, $\chi^2_{0,05} = 3.84$ **Таблица 2.** Расщепление по устойчивости к *Rhynchosporium commune* F₂ гибридов от скрещивания выделенных образцов ячменя**Table 2.** Segregation for resistance to *Rhynchosporium commune* in F₂ hybrids from crossing between barley accessions identified for their resistance

| Комбинация скрещивания | Соотношение фенотипов R : S | | χ^2 | Вероятность Р |
|------------------------|-----------------------------|-----------|----------|---------------|
| | фактическое | ожидаемое | | |
| к-31503 × к-31505 | 408 : 42 | 781 : 243 | 51,535 | > 0,005 |
| к-31503 × к-31504 | 144 : 56 | 781 : 243 | 2,014 | 0,10 – 0,20 |
| к-31504 × к-31505 | 67 : 29 | 175 : 81 | 0,091 | 0,75 – 0,80 |

пяти рецессивным генам, контролирующим устойчивость. В F₂ к-31504 × к-31505 фактическое соотношение фенотипов соответствовало теоретически ожидаемому 175 : 81, что свидетельствует о дигенном рецессивном контроле признака у каждого из этих образцов. При скрещивании к-31503 с к-31505 в F₂ наблюдали соотношение 408 : 42, которое не соответствует теоретически ожидаемому при расщеплении по пяти рецессивным генам устойчивости. Наиболее вероятное объяс-

нение этого противоречия – ошибка классификации фенотипов. В любом случае гены устойчивости этих образцов не аллельны, на что указывает расщепление в F₂ к-31503 × к-31505.

Образцы имеют гены устойчивости к *R. commune*, отличающиеся от идентифицированного ранее гена *Rrs9*: во всех трех комбинациях скрещиваний выделенных нами форм с почти изогенной линией NIL 9 выявлено расщепление по устойчивости к грибу (табл. 3). Гибри-

Таблица 3. Расщепление по устойчивости к *Rhynchosporium commune* F₂ гибридов от скрещивания устойчивых образцов с тестером гена *Rrs9* и выделенными ранее донорами устойчивости**Table 3.** Segregation for resistance to *Rhynchosporium commune* in F₂ hybrids from crossing resistant accessions with the *Rrs9* gene carrier and previously identified donors of resistance

| Комбинация скрещивания | Соотношение фенотипов R : S | | χ^2 | Вероятность Р |
|---------------------------------|-----------------------------|-----------|----------|---------------|
| | фактическое | ожидаемое | | |
| к-31504 × NIL 9 (<i>Rrs9</i>) | 227 : 48 | 55 : 9 | 2,618 | 0,10 – 0,20 |
| к-31505 × NIL 9 (<i>Rrs9</i>) | 83 : 10 | 55 : 9 | 0,843 | 0,25 – 0,50 |
| к-31503 × NIL 9 (<i>Rrs9</i>) | 195 : 24 | 229 : 27 | 0,004 | 0,90 – 0,95 |
| к-31503 × к-22299 | 191 : 5 | 997 : 27 | 0,006 | 0,90 – 0,95 |
| к-31503 × к-27768 | 207 : 6 | 997 : 27 | 0,027 | 0,80 – 0,90 |
| к-31505 × к-22299 | 206 : 8 | 247 : 9 | 0,031 | 0,80 – 0,90 |
| к-31505 × к-27768 | 177 : 6 | 247 : 9 | 0,030 | 0,80 – 0,90 |
| к-31504 × к-22299 | 137 : 7 | 247 : 9 | 0,769 | 0,25 – 0,50 |
| к-31504 × к-27768 | 189 : 6 | 247 : 9 | 0,144 | 0,50 – 0,75 |

дологический анализ показал также, что выделенные образцы защищены генами устойчивости к *R. commune*, которые отличаются от генов, имеющих у образцов к-27768 и к-22299 (см. табл. 3). Результаты изучения аллельных отношений генов устойчивости подкрепляют вывод о том, что образцы к-31504 и к-31505 имеют по два рецессивных гена устойчивости к патогену, а образец к-31503 – три рецессивных гена.

Рецессивный характер наследования признака у образцов к-31504, к-31505 и к-31503 свидетельствует также о различии генетического контроля устойчивости у этих форм и изученных ранее (Коновалова, Radchenko, 2018) к-16233 (два доминантных гена устойчивости) и к-27205 (один доминантный ген). Следует сравнить гены устойчивости новых доноров с рецессивными генами, которыми защищены образцы ячменя из Китая (Soboleva et al., 2016) к-15868 и к-3481 (имеют по два комплементарных рецессивных гена устойчивости к *R. commune*), к-18989 (два рецессивных гена) и к-3307 (один рецессивный ген устойчивости к патогену).

Выводы

Образцы местного ячменя к-31503 (Индия), к-31504 (Македония) и к-31505 (Эфиопия) несут гены устойчивости к *Rhynchosporium commune*, которые различаются между собой, не аллельны эффективному гену *Rrs9* и проявляются на протяжении всего периода вегетации ячменя. Образцы к-31504 и к-31505 имеют по два рецессивных гена устойчивости к грибу, к-31503 защищен тремя рецессивными генами.

Работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР № 0662-2019-0006 «Структурирование и раскрытие потенциала наследственной изменчивости мировой коллекции зерновых и крупяных культур ВИР для развития оптимизированного генбанка и рационального использования в селекции и растениеводстве».

The research was performed within the framework of the State Task according to the theme plan of VIR, Project No. 0662-2019-0006 "Search For and Viability Maintenance, and Disclosing the Potential of Hereditary Variation in the Global Collection of Cereal and Groat Crops at VIR for the Development of an Optimized Genebank and Its Sustainable Utilization in Plant Breeding and Crop Production."

References/Литература

Bjørnstad A., Patil V., Tekauz A., Marøy A.G., Skinnen H., Jensen A. et al. Resistance to scald (*Rhynchosporium secalis*) in barley (*Hordeum vulgare*) studied by near-isogenic lines: I. Markers and differential isolates. *Phytopathology*. 2002;92(7):710-720. DOI: 10.1094/PHYTO.2002.92.7.710

Carisse K.X., Burnett P.A., Tewari J.P., Chen M.H., Turking-

ton T.K., Helm J.H. Histopathological study of barley cultivars resistant and susceptible to *Rhynchosporium secalis*. *Phytopathology*. 2000;90(1):94-102. DOI: 10.1094/PHYTO.2000.90.1.94

- Hanemann A., Schweizer G.F., Cossu R., Wicker T., Röder M.S. Fine mapping, physical mapping and development of diagnostic markers for the *Rrs2* scald resistance gene in barley. *Theoretical and Applied Genetics*. 2009;119(8):1507-1522. DOI: 10.1007/s00122-009-1152-9
- Jørgensen H.J.L., Smedegaard-Petersen V. Pathogenic variation of *Rhynchosporium secalis* in Denmark and sources of resistance in barley. *Plant Disease*. 1995;79(3):297-301. DOI: 10.1094/PD-79-0297
- Konovalova G.S. Scald (Rinkhosporioz). In: E.E. Radchenko (ed.). *The study of the genetic resources of cereal crops for resistance to harmful organisms. A guide (Izucheniye geneticheskikh resursov zernovoykh kultur po ustoychivosti k vrednym organizmam. Metodicheskoye posobiye)* Moscow: Rosselkhozakademiya; 2008. p.129-135. [in Russian] (Коновалова Г.С. Ринхоспориоз. В кн.: *Изучение генетических ресурсов зерновых культур по устойчивости к вредным организмам. Методическое пособие / под ред. Е.Е. Радченко.* Москва: Россельхозакадемия; 2008. С.129-135).
- Konovalova G.S., Radchenko E.E. Inheritance of scald resistance in four barley landraces. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2018;179(3):265-271. [in Russian] (Коновалова Г.С., Радченко Е.Е. Наследование устойчивости к ринхоспориозу у четырех образцов местного ячменя. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2018;179(3):265-271). DOI: 10.30901/2227-8834-2018-3-265-271
- Konovalova G.S., Soboleva O.N. Sources of barley resistance to scald causal agent (*Rhynchosporium secalis*) from South-East Asia. *Mycology and Phytopathology*. 2010;44(3):248-254. [in Russian] (Коновалова Г.С., Соболева О.Н. Источники устойчивости ячменя из Юго-Восточной Азии к возбудителю ринхоспориоза (*Rhynchosporium secalis*). *Микология и фитопатология*. 2010;44(3):248-254).
- McDonald B.A., Zhan J., Burdon J.J. Genetic structure of *Rhynchosporium secalis* in Australia. *Phytopathology*. 1999;89(8):639-645. DOI: 10.1094/PHYTO.1999.89.8.639
- Robbertse B., Lennox C.L., van Jaarsveld A.B., Crous P.W., van der Rijst M. Pathogenicity of the *Rhynchosporium secalis* population in the Western Cape province of South Africa. *Euphytica*. 2000;115(1):75-82. DOI: 10.1023/A:1003946623529
- Soboleva O.N., Konovalova G.S., Radchenko E.E. Genetic control of scald resistance in barley landraces. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2016;20(5):616-622. [in Russian] (Соболева О.Н., Коновалова Г.С., Радченко Е.Е. Генетический контроль устойчивости образцов местного ячменя к ринхоспориозу. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2016;20(5):616-622). DOI: 10.18699/VJ16.141
- Tekauz A. Pathogenic variation in *Rhynchosporium secalis* on barley in Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 1991;13(4):298-304. DOI: 10.1080/07060669109500915

Прозрачность финансовой деятельности / The transparency of financial activities

Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

The authors declare the absence of any financial interest in the materials or methods presented.

Для цитирования / How to cite this article

Коновалова Г.С., Радченко Е.Е. Доноры эффективных генов устойчивости ячменя к ринхоспориозу. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2020;181(3):141-145. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-141-145

Konovalova G.S., Radchenko E.E. Donors of effective genes for scald resistance in barley. Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding 2020;181(3):141-145. DOI:10.30901/2227-8834-2020-3-141-145

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы / The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work

Дополнительная информация / Additional information

Полные данные этой статьи доступны / Extended data is available for this paper at <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2020-3-141-145>

Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы / The journal's opinion is neutral to the presented materials, the authors, and their employer

Авторы одобрили рукопись / The authors approved the manuscript

Конфликт интересов отсутствует / No conflict of interest

ORCID

Konovalova G.S. <http://orcid.org/0000-0001-6787-5766>

Radchenko E.E. <http://orcid.org/0000-0002-3019-0306>