

УДК 633.11:631.52

**Б.И. Сандухадзе**, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, академик РАН,  
заведующий лабораторией;  
**М.И. Рыбакова**, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный  
сотрудник;  
**Г.В. Кочетыгов**, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный  
сотрудник;  
**А.А. Морозов**, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник;  
**Э.К. Сандухадзе**, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный  
сотрудник;  
В.В. Бугрова, старший научный сотрудник,  
*ФГБНУ Московский НИИСХ «Немчиновка»*  
(143026, Московская обл., Одинцовский р-н, рп Новоивановское, ул. Калинина, д. 1  
Тел. 8-495-591-86-24; e-mail: [sanduchadze@mail.ru](mailto:sanduchadze@mail.ru))

## СЕЛЕКЦИЯ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К БУРОЙ РЖАВЧИНЕ (*PUSCINIA TRITICINA* ERIKS.) В МОСКОВСКОМ НИИСХ «НЕМЧИНОВКА»

Исследованы сорта озимой мягкой пшеницы по содержанию генов устойчивости с использованием тест-изолятов к *P. tritricina*. Основой такой постановки является теория Флора «ген на ген», по которой каждому гену устойчивости соответствует ген вирулентности. Изучено 11 сортов и перспективных линий селекции Московского НИИСХ «Немчиновка» и 7 сортов из других регионов.

В исследованиях было 12 моногенных линий с Thather с генами Lr 2a, Lr 2b, Lr 9, Lr 11, Lr 15, Lr 16, Lr 20, Lr 23, Lr 26, Lr 36, Lr 44, Lr 46 и 10 тест-изолятов с *P. tritricina* с разной вирулентностью и разного происхождения. О наличии или отсутствии конкретного гена устойчивости к *P. tritricina* в сорте судят по совпадению его типа реакции на тест-изолят с типом реакции моногенной линии данного гена. При совпадении по всем изолятам или его отсутствии не представляется возможным определить конкретный ген. С дополнительным применением метода ПЦР-анализа с использованием маркера CSLV 34 уточнено наличие некоторых генов.

В перспективных линиях Эритроспермум 1066/08 и Эритроспермум 1068/08 имеется ген 34, обуславливающий возрастную устойчивость, Эритроспермум 1068/08 имеет дополнительный ген 3a.

У сортов Немчиновская 17 и Немчиновская 24 идентифицирован ген Lr 9, у сортов Донщина и Снежана – Lr 26, у сорта Дока - гены Lr 20 и Lr 23 с одним неизвестным, у сорта Gene предположительно сочетание гена Lr 46 с двумя неизвестными. Для селекции

на устойчивость к бурой ржавчине следует использовать сорта с геном Lr 9 Немчиновская 17 и Немчиновская 24, имеющие также ген Lr 46, способствующий замедленному развитию болезни в полевых условиях, а также сорта KS 93 U11 и KS 93 U50.

В гибридных комбинациях Немчиновская 17 и Немчиновская 24 с сортом Московская 40, обладающим повышенным содержанием белка, с помощью ПЦР-анализа определён ген Lr 9 в F<sub>2</sub> и отборах в F<sub>3</sub>, что подтверждает возможность получения

сочетания устойчивости к бурой ржавчине с повышенным качеством в селекционируемых сортах.

*Ключевые слова:* озимая пшеница, селекция, бурая ржавчина, сорта, гибриды, определение генов устойчивости.

**B.I. Sandukhadze**, Doctor of Agricultural Sciences, professor, academician of RAA,  
head of the laboratory;

**M.I. Rybakova**, Doctor of Biology, professor, leading research officer;

**G.V. Kochetygov**, Candidate of Agricultural Sciences, leading research officer;

**A.A. Morozov**, Candidate of Agricultural Sciences, leading research officer;

**E.K. Sandukhadze**, Candidate of Agricultural Sciences, senior research officer;

**V.V. Bugrova**, senior research officer,

*FSBRI Moscow RIA "Nemchinovka"*

*(143026, Moscow region, Odintsovo district, v. Novoivanovskoe, Kalinin Str., 1, tel.: 8-495-591-86-24; e-mail: [sanduchadze@mail.ru](mailto:sanduchadze@mail.ru))*

## **BREEDING OF WINTER WHEAT ON TOLERANCE TO LEAF RUST (PUCCINIA TRITICINA ERIKS.) IN MOSCOW RIA "NEMCHINOVKA"**

The genes of P.triticina tolerance of the varieties of soft winter wheat have been studied by test-isolators. The experiment was based on Flor's theory 'gene for gene', when a tolerant gene matches virulence. Eleven varieties and promising lines bred by Moscow RIA "Nemchinovka" and seven ones bred in other regions were studied. The study was carried out on twelve monogenic lines with Thather with genes Lr 2a, Lr 2b, Lr 9, Lr 11, Lr 15, Lr 16, Lr 20, Lr 23, Lr 26, Lr 36, Lr 44, Lr 46 and 10 test-isolators with P. triticina with different virulence and of various origin. If its reaction to test-isolator coincides with the reaction of monogenic line of the gene it's a sign of presence or absence of a definite tolerant gene to P. triticina in the variety. It's

impossible to determine a definite gene if there is a match of reactions to all isolators or there isn't. The use of PCR-analysis with CSLV 34 allowed identifying some genes. Promising lines 'Eritrosperrum 1066/08' and 'Eritrosperrum 1068/08' possess the gene 34, which gives aging stability; 'Eritrosperrum 1068/08' possesses an additional gene 3a. The varieties 'Nemchinovskaya 17' and 'Nemchinovskaya 24' possess the gene Lr 9, the varieties 'Donshchina' and 'Snezhana' possess the gene Lr 26, the variety 'Doka' possesses the genes Lr 20 and Lr 23 with an unknown one, the variety 'Gene' possesses the gene Lr 46 with two unknown ones. The varieties 'Nemchinovskaya 17' and 'Nemchinovskaya 24' with the genes Lr 9 and Lr 46, which slow the development of the disease in the field conditions and the varieties KS 93 U11 and KS 93 U50 should be used breeding on tolerance to leaf rust. The gene Lr 9 was identified by PCR-analysis in F<sub>2</sub> and F<sub>3</sub> of the varieties 'Nemchinovskaya 17' and 'Nemchinovskaya 24' hybridized with 'Moskovskaya 40', having a high content of protein. It showed a possibility to obtain varieties with leaf rust tolerance and high quality.

**Keywords:** *winter wheat, breeding, leaf rust, varieties, hybrids, identification of genes*

**Введение.** Согласно законам иммунитета, сформированным Н.И. Вавиловым: «Трудность селекции увеличивается дифференциацией видов паразитов на биологические и физиологические расы, нередко весьма различные в разных районах и областях. Расовый состав может варьировать по годам ... Селектируя сорт на иммунитет, селекционер должен учитывать возможность изменения расового состава паразитов, которое в значительной мере зависит от изменения условий погоды и привнесения новых вирулентных рас» [1].

Сложность селекции озимой пшеницы на устойчивость к возбудителю бурой ржавчины обусловлена относительно быстрой потерей устойчивости у вновь созданных сортов из-за появления новых вирулентных рас патогена.

Исследования вирулентности популяций *P. triticina* по регионам России, возделывающим пшеницу, показали, что частота встречаемости генов вирулентности зависит от генотипа сорта. При этом увеличение посевов сортов с расоспецифической устойчивостью приводит к появлению новых рас или к увеличению частоты встречаемости. По частоте встречаемости в разных регионах определяется эффективность генов устойчивости к патогенам, из 4-х градаций от 0 до свыше 50%, к средне эффективной до 20% относятся гены ювенильной устойчивости – 9, 19, 28, 32, 43, 44 и 46 и гены возрастной устойчивости – 12, 13, 35, 37, 13+34 [2].

Основу сортов озимой пшеницы Московского селекцентра составляют сорта нового морфотипа, с архитектоникой растений, отличающиеся низкостебельностью, устойчивостью к полеганию, превышающие по урожайности стандарт на 1 т/га. Они

созданы с применением метода, прерывающегося беккроссированием по разработанной схеме. Отличием от сортов, полученных в начале 90-х, обладает сорт Немчиновская 24, устойчивый к бурой ржавчине, созданный индивидуальным отбором из F<sub>2</sub> гибридной

комбинации (Донщина x Инна), включённый в Госреестр селекционных достижений в 2006 году. Сорт высокоурожайный, устойчив к полеганию, с высотой растений до 85 см, имеет высокий выход зерна, с максимумом выше 50%, не поражается бурой ржавчиной, отзывчивый на удобрения [3].

Для селекции на устойчивость к возбудителям патогенов, в том числе к *P. triticina*, с развитием молекулярной биологии принципиально расширились возможности создания сортов, сочетающих гены с разным уровнем устойчивости. Приводятся сведения о том, что для таких генов устойчивости к *P. triticina*, как Lr 9, Lr 24, Lr 26, Lr 25, Lr 35 и Lr 39, подобраны ДНК-маркёры [4]. Гены устойчивости к бурой ржавчине у сортов пшеницы разного происхождения были идентифицированы с помощью ПЦР-метода [5].

Для повышения эффективности селекции озимой пшеницы на устойчивость к бурой ржавчине, несмотря на имеющиеся успехи, требуется оценка сортов и исходного материала по генетическим основам устойчивости к этому патогену с использованием современных методов молекулярной биологии.

**Материал и методы.** Исследовали 11 сортов и перспективных линий озимой пшеницы селекции института – Памяти Федина, Немчиновская 17, Немчиновская 24, Московская 39, Московская 40, Лютесценс 982/08, Эритроспермум 898/08, Эритроспермум 902/08, Эритроспермум 1066/08, Эритроспермум 1068/08, Эритроспермум 1071/08 и 7 сортов других эколого-географических регионов – Дока, Донщина, Антонивка, Снежана, KS 93 U11, KS 93 U50 и Gene.

Сорта оценивали во ВНИИ фитопатологии на устойчивость к 10 тест-изолятам возбудителя бурой ржавчины с различной вирулентностью и различного происхождения. Всходы сортов и Lr-линий с единичными генами устойчивости инокулировали водной суспензией урединиоспор тест-изолятов (1 мг спор и 2 мл водопроводной воды на 60 растений) и помещали во влажную камеру на 16-20 часов, а затем переносили в климатическую камеру PGV-36 с t 20°C, влажностью 60-70 %, освещённостью 10-15 тыс. люкс с фотопериодом 16 часов. Тип реакции сортов и моногенных линий на тест-изоляты учитывали на 10 день после инокуляции по шкале Mains and Jackson (1926).

Метод ПЦР-анализа для выявления генов устойчивости к бурой ржавчине по молекулярно-генетическим маркерам применяли на базе лаборатории генетики в 2011-2013 гг. Выделение ДНК проводили по СТАВ методу по 1-2 высечкам листьев. Синтез праймеров осуществляли в фирме «Синток» г. Москва. Межсортовую гибридизацию делали принудительным скрещиванием, опыление твел-методом (twirl-method) – СУММУТ. Поражение бурой ржавчиной оценивали по шкале Mains and Jackson (1926) и Peterson R.F. (1948), где RR – высокоустойчивый (<5% поражения), R – устойчивый (5-15%), MR – умеренно устойчивый (16-25%), MS – умеренно восприимчивый (26-40%), S – восприимчивый ( $\geq 41\%$ ) образец. Оценивали родительские формы и отборы из F<sub>2</sub>.

**Результаты.** В исследованиях о наличии или отсутствии определённых генов устойчивости к *Puccinia triticina* в сортах озимой пшеницы были проведены сравнения типа реакции сорта с типом реакции линии с определённым Lr –геном на тест-изоляты. Основой такого подхода служит теория Флора «ген-на-ген», по которой каждому гену устойчивости хозяина должен соответствовать ген вирулентности к. При наличии или отсутствии реакции сорта на все испытанные тест-изоляты идентифицировать Lr-гены невозможно.

При наличии полного совпадения типов реакции растений сортов Немчиновская 24 и Немчиновская 17 и линий с Lr 9 этот ген был идентифицирован в этих сортах (табл. 1).

1. Реакция всходов моногенных линий с. Thatcher и сортов пшеницы на заражение тест-изолятами *P. triticina*.

Lr-линии с генами	Тест-изоляты с <i>Puccinia triticina</i>										Lr гены
	593-8	689-4	621-5	628-8	721-11	720-5	676-1	730-13	718-1	721-9	
Lr 2a	в	в	в	в	у	в	в	в	у	у	
Lr 2b	в	в	в	в	в	в	в	в	в	у	
Lr 9	у	у	у	у	у	у	у	в	у	у	
Lr 11	в	в	в	в	в	в	в	у	в	в	
Lr 15	в	в	в	в	в	в	в	в	в	у	
Lr 16	в	в	в	у	у	у	у	у	у	у	
Lr 20	в	в	у	в	у	у	в	в	у	у	
Lr 23	в	в	в	у	в	в	в	у	в	в	
Lr 26	в	в	в	в	у	в	в	у	у	у	

Lr 36	у	в	у	у	в	у	у	у	в	в	
Lr 44	у	в	у	у	у	у	у	у	у	у	
Lr 46	у	в	в	у	у	в	в	у	в	в	
Сорта											
Нем-24	у	у	у	у	у	у	у	в	у	у	Lr9+Lr46
Нем-17	у	у	у	у	у	у	у	в	у	у	Lr9
Мос-39	в	в	в	в	в	в	в	в	в	в	Lr1
Мос-40	в	в	в	в	в	в	в	в	в	в	
Эрит. 1066/08	в	в	в	в	в	в	в	в	в	в	Lr34
Эрит. 1068/08	в	в	в	в	в	в	в	в	в	в	Lr34+Lr3a
Донщина	в	в	в	в	у	в	в	у	у	у	Lr26
Дока	в	в	у	у	у	у	у	у	у	у	Lr26+Lr23++
Снежана	в	в	в	в	у	в	в	у	у	у	Lr26
Gene	у	у	в	у	у	в	в	у	у	в	Lr46++

«у» - устойчивый, «в» - восприимчивый

Примечание: наличие «+» после цифр в графе Lr-ген свидетельствует о наличии неизвестных генов.

Сорта Памяти Федина, Эритроспермум 1071/08, Эритроспермум 898/08, Эритроспермум 902/08, Московская 40, Лютесценс 982/08 и Антонивка оказались восприимчивыми ко всем тест-изолятам, а KS 93 U11 и KS 93 U50 – устойчивыми. И в первом, и во втором случае при этих условиях определить гены Lr не представляется возможным.

Методом ПЦР-анализа в результате использования соответствующего маркера был определён ген Lr 34 – возрастной устойчивости у Эритроспермум 1066/08 и у Эритроспермум 1068/08, последний имеет ещё дополнительный ген 3a.

Озимые сорта с выявленными Lr-генами представлены в таблице 2.

## 2. Сорта озимой мягкой пшеницы с выявленными Lr генами устойчивости к *P. triticina*.

Сорт	Происхождение	Постулируемые Lr гены
Немчиновская 24	Московский НИИСХ «Немчиновка»	Lr 9 + Lr 46
Немчиновская 17	Московский НИИСХ «Немчиновка»	Lr 9
Московская 39	Московский НИИСХ «Немчиновка»	Lr 1
Эритроспермум 1066/08	Московский НИИСХ «Немчиновка»	Lr 34
Эритроспермум 1068/08	Московский НИИСХ «Немчиновка»	Lr 34 + 3a
Донщина	Всероссийский НИИ зерновых культур	Lr 26
Снежана	Мироновский институт пшеницы	Lr 26
Дока	Краснодарский НИИСХ	Lr 20 + Lt 23 +
Gene	США	Lr 46 ++

При совпадении типов реакции сортов Донщина и Снежана и линии с Lr 26 этот ген определён у этих сортов. Если наблюдается неполное совпадение типов реакции сорта и линии на тест-изоляты, можно предположить наличие сочетания известных Lr генов с неизвестными. По данным таблицы 2, у сорта Gene возможно сочетание известного гена Lr 46 с двумя неизвестными, а у сорта Дока двух идентифицированных генов Lr 20 и Lr 23 с одним неизвестным.

Из сортов озимой пшеницы, представляющих интерес для селекции на устойчивость к бурой ржавчине, приоритет имеют сорта Немчиновская 24 с эффективными генами Lr 9 и Lr 46, обуславливающими замедленное развитие болезни в полевых условиях, Немчиновская 17 с геном Lr 9 и американские сорта KS 93 U11 и KS 93 U50, проявившие устойчивость ко всем тест-изолятам.

Сорт Немчиновская 24 активно используется в селекционном процессе лаборатории селекции и первичного семеноводства озимой пшеницы. С его участием из гибридной комбинации (Немчиновская 24 x Московская 39) индивидуальным отбором получен сорт Немчиновская 17. Разновидность- эритроспермум, не поражается бурой ржавчиной, имеет хорошие хлебопекарные качества, высокоурожайный, отзывчив на удобрения.

С участием сортов Немчиновская 24 и Немчиновская 17 в качестве родителей получены гибриды и проведены отборы из F<sub>2</sub>. Методом ПЦР-анализа были определены растения с геном устойчивости к бурой ржавчине Lr 9 (таблица 3).

### 3. Количество отобранных растений с идентифицированным геном устойчивости к бурой ржавчине в F<sub>2</sub>.

Немчиновская 24 ♀	Памяти Федина ♂	Немчиновская 57 ♂	Московская 40 ♂
Отбрано растений	15	13	8
% отбора	44	40	61
Немчиновская 17 ♀			
Отбрано растений	13	10	13
% отбора	38	33	46

Отборы на Lr 9 в F<sub>2</sub> гибридных комбинаций с помощью ПЦР-анализа имели устойчивый тип реакции в третьем поколении. Некоторые различия имелись между гибридами с Немчиновской 24 и Немчиновской 17. У гибридов с Немчиновской 24 100% отбора в F<sub>3</sub> имели оценку RR – высокоустойчивые, а с Немчиновской 17 такая оценка была от 40 до 100%, в зависимости от комбинации, при этом 60% имели оценку R. С некоторой осторожностью можно считать, что Немчиновская 17 достаточно надёжный донор Lr 9.

Особый интерес представляют комбинации с Московской 40, являющейся вторым сортом с повышенным качеством зерна после Московской 39 (таблица 4).

4. Комбинации линий F<sub>3</sub>, устойчивые к бурой ржавчине и с повышенным содержанием белка в зерне (2012 г.)

Комбинация	Количество линий, шт.	Реакция на поражение бурой ржавчиной			Содержание белка в зерне, %		
		♀	F <sub>3</sub>	♂	♀	F <sub>3</sub>	♂
Моск 40 x Нем 24	11	MS	RR	RR	17,8	16,5±0,16	14,3
Моск 40 x Нем 17	9	MS	RR	RR	17,8	17,5±0,10	14,5
Нем 24 x Моск 40 *	8	RR	RR	MS	14,3	17,4±0,28	17,8
Нем 17 x Моск 40 *	10	RR	RR	MS	14,9	16,9±0,31	17,8
Всего	38						

\*-отбор с идентификацией гена Lr 9 ПЦР- методом

Данные таблицы 4 не подтверждают устойчивость к бурой ржавчине и не выявляют различий по устойчивости отборов в F<sub>3</sub> к бурой ржавчине при прямых и обратных скрещиваниях с Московской 40.

#### Выводы.

1. Приведённая оценка сортов озимой мягкой пшеницы на устойчивость к 10 тест-изолятам возбудителя бурой ржавчины с различной вирулентностью и различным происхождением выявила у 9 сортов Lr- гены, расширила сведения о генетических различиях устойчивости сортов.
2. Лучшими для использования в селекции признаны сорта Немчиновская 24, Немчиновская 17, представляют интерес сорта KS 93 U11 и KS 93 U50, оказавшиеся устойчивыми ко всем изолятам.
3. Полученные отборы из гибридных комбинаций с сортами Немчиновская 24 и Немчиновская 17 с сортом Московская 40, отличающимися повышенным содержанием белка, обладают геном Lr 9 и представляют собой ценный исходный материал.

#### Литература

1. *Вавилов, Н.И.* Законы естественного иммунитета растений к инфекционным заболеваниям / Н.И. Вавилов // Избранные сочинения. – М.: Колос, 1966. - С. 254-319.
2. *Коваленко, Е.Д.* Современное состояние популяций возбудителя бурой ржавчины и создание генбанка источников и доноров устойчивости пшеницы / Е.Д. Коваленко, А.И. Жемчужина, М.И. Киселёва, Т.М. Коломиец, И.Ф. Лапочкина, Ж.Н. Худокормова, Х. Боккельман // Иммунологическая защита сельскохозяйственных культур от болезней: теория и практика. Материалы

Международной научно-практической конференции. Московская обл., Большие Вязёмы. - 2012. - С. 69-80.

3. *Сандухадзе, Б.И.* Развитие и результаты селекции озимой пшеницы в центре Нечерноземья. Б.И. Сандухадзе, Г.В. Кочетыгов, М.И. Рыбакова, Н.С. Беркутова, В.В. Бугрова // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2010. - №1. - С. 21-30.
4. *Михайлова, Л.А.* Устойчивость пшеницы к бурой ржавчине. / Л.А. Михайлова // Идентифицированный генофонд растений и селекция. - Санкт-Петербург, 2005. - с. 513-521.
5. *Урбанович, О.Ю.* Определение генов устойчивости к бурой ржавчине в сортах пшеницы (*Triticum aestivum* L.) с использованием молекулярных маркёров / О.Ю. Урбанович, С.В. Малышев, Т.В. Долматович, Н.А. Картель // Генетика. – 2006. - Т. №5 (42). - С. 675-683.

#### **Literature**

1. *Vavilov, N.I.* Laws of natural immunity of plants to infectious diseases/ N.I. Vavilov// Selected works. – М.: Publ. “Kolos”. - 1966. - P. 254-319.
2. *Kovalenko, E.D.* Present state of leaf rust pathogen and creation of bank of sources and donors of wheat tolerance/ E.D. Kovalenko, A.I. Zhemchuzhina, M.I. Kisileva, T.M. Kolomiets, I.F. Lapochkina, Zh.N. Khudokormova, Kh. Bokkelman// Immune protection of crops from diseases: theory and practice. Materials of International science-practical conference. Moscow region, Bolshie Vyazemy. – 2012. – P. 69-80.
3. *Sandukhadze, B.I.* Development and results of winter wheat breeding in the center of Chernozemie. B.I. Sandukhadze, G.V. Kochetygov, M.I. Rybakova, N.S. Berkutova, V.V. Bugrova // Vestnik of Russian Academy of Agriculture. - 2010. - №1. - P. 21-30.
4. *Mikhaylova, L.A.* Wheat tolerance to leaf rust/ L.A. Mikhaylova// Identified gene fund of plants and breeding. – Saint-Petersburg, 2005. – P. 513-521.
5. *Urbanovich, O.Yu.* Determination of tolerant gens to leaf rust in wheat varieties (*Triticum aestivum* L.) using molecular markers/ O.Yu. Urbanovich, S.V. Malyshev, T.V. Dolmatovich, N.A. Kartel// Genetics. - 2006. - Т. №5 (42). - P. 675-683.