6. Hijmans R.J. et al., 2002. Atlas of Wild Potatoes. IPGRI, Rome.
7. Muratova (Fadina) O.A. et al. South American species *Solanum alandiae* Card. and *S.okadae* Hawkes et Hjerting as potential sources of genes for potato late blight resistance. Труды по прикл. бот., ген. и сел. 2020. 181(1):73-83.
8. Клименко Н.С. и др. Маркер-опосредованная селекция отечественных сортов картофеля с маркерами генов устойчивости к золотистой картофельной нематодe (патотип Ro1). Труды по прикл. бот., ген. и сел. 2017. 178(4): 66-75.
9. Рогозина Е.В. и др. Каталог мировой коллекции картофеля ВИР. Картофель. Межвидовые гибриды картофеля устойчивые к возбудителям болезней. Вып. 833. СПб. ВИР. 2018.

DOI 10.18699/GPB2020-63

Разработка маркеров, контролирующих устойчивость ярового ячменя к патогену *Cochliobolus sativus*, на основе ассоциативного картирования

Розанова И.В.^{1,3*}, Лашина Н.М.², Ефимов В.М.³, Афанасенко О.С.², Хлесткина Е.К.^{1,3}

¹Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург, Россия;

²Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург, Россия;

³Федеральный исследовательский центр институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия.

*e-mail: bykova@bionet.nsc.ru

Несовершенный гриб, патоген Cochliobolus sativus – (Bipolaris sorokiniana (anamorph) (Sacc) Shoemaker) это один из наиболее широко распространенных патогенов, вызывающий различные болезни, в числе которых темно-бурая пятнистость и корневые гнили. Определение генетических локусов, ассоциированных с устойчивостью ячменя к этим болезням, важно для разработки диагностических ДНК-маркеров для селекции устойчивых сортов ячменя. Целью настоящей работы является выявление генетических локусов, ассоциированных с устойчивостью как проростков, так и взрослых растений ячменя к изолятам C. sativus на основе оценки Сибирской коллекции ярового ячменя.

Ключевые слова: Hordium vulgare, QTL, Cochliobolus sativus.

The marker development that controlling the resistance of spring barley to *Cochliobolus sativus* pathogen using association mapping approach

Rozanova I.V. ^{*1,2}, Lashina N.M.³, Efimov V.M.² Afanasenko O.S.³, Khlestkina E.K.^{1,2}

¹ Federal Research Center N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR); ² Federal Resaech Center Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia; ³ All-Russian Research Institute for Plant Protection, St. Petersburg, Russia.

*e-mail: bykova@bionet.nsc.ru

The fungal pathogen Cochliobolus sativus – (Bipolaris sorokiniana (anamorph) (Sacc) Shoemaker) is one of the most worldwide pathogen which causes such diseases as spot blotch and root rot of barley. Identification of genetic loci associated with resistance to C. sativus is of importance for future marker-assisted selection. The goal of the current study was to identify loci conferring both for seedling and for adult plants resistance to different isolates of C. sativus pathogen in the Siberian spring barley core collection.

Селекционные программы по созданию новых сортов злаковых растений ориентированы на сохранение урожая и экологичности его получения. Одним из компонентов этих программ является выведение сортов злаковых, устойчивых к болезням. В конце прошлого века благодаря появлению и быстрому развитию технологий секвенирования и молекулярного картирования появились подходы, основанные на применении ДНК-маркеров в селекции. Маркер-ориентированная селекция (МОС) позволяет ускорять и удешевлять процесс получения сорта путем более быстрого и эффективного отбора нужных генотипов среди селекционных гибридов. Геномная селекция позволяет оценивать потенциал вклада небольших по эффективности QTL. ДНК-маркеры перспективны в создании сортов с долгосрочной устойчивостью, так как их использование дает возможность комбинировать гены устойчивости в одном генотипе, обеспечивая тем самым эффективную защиту против широкого спектра изолятов с различной вирулентностью [1, 2]. МОС с использованием маркеров, генов устойчивости растений к болезням, широко используются в Европе, США, Канаде и Австралии. Применение этого подхода является актуальным и для России. Одной из основных болезней ячменя, наносящих серьезный урон урожаю во всех регионах его культивирования, является темно-бурая пятнистость (вызываемая аскомицетом *Cochliobolus sativus*, анаморфа *Bipolaris sorokiniana*). Эпифитотии пятнистостей ячменя случаются раз в 5–10 лет. Снижение урожайности сортов ячменя восприимчивых к этим болезням во время эпифитотии составляют от 20 до 40 % [1, 3]. Патоген *C.sativus* вызывает не только темно-бурую пятнистость, но так же и корневые гнили. При серьезном поражении корневыми гнилями результатом является укорочение колоса, самого растения и уменьшение зерна, что также приводит к снижению урожайности. Потери урожая могут достигать 80 % [4].

В настоящее время для выявления генетических маркеров, ассоции-

рованных с устойчивостью используют два подхода: анализ двуродительских картирующих популяций и анализ коллекций с помощью полногеномного анализа ассоциаций (GWAS). QTL анализ 12 двуродительских картирующих популяций выявил ранее ряд локусов, связанных с устойчивостью к темно-бурой пятнистости на всех хромосомах ячменя [3, 5–9]. Ассоциативное картирование локусов, отвечающих за данный признак, также успешно использовалось для выявления новых локусов в коллекциях образцов ячменя различного происхождения [10–14]. Данных по картированию локусов устойчивости к корневым гнилям не обнаружено. Отечественный генофонд, в подобных исследованиях практически не был задействован. В связи с этим целью настоящей работы было выявление генетических маркеров как ювенильной устойчивости, так и взрослых растений к темно-бурой пятнистости, и к корневым гнилям на основе ассоциативного картирования с использованием Сибирской коллекции ярового ячменя.

Экспериментальная часть. В 2017 году было проведено высокопроизводительное SNP-генотипирование 94 отобранных сортов и линий ячменя Сибирской коллекции по технологии 50,000 Иллюмина iSelect SNP анализа в компании Traitgenetics GmbH (Gatersleben, Germany) по 44,040 SNP маркерам. Из 44 тыс. SNP около 39 тыс. были полиморфными, из них для полногеномного анализа ассоциаций использовались 62 % наиболее информативных [15].

Оценку устойчивости проростков к возбудителям темно-бурой пятнистости проводили с помощью трех изолятов *C. sativus* различного происхождения: Ch3, Kt2 и O18.2. Так же оценку устойчивости к взрослым растениям проводили с помощью изолята Ch3. Оценка устойчивости к проросткам к корневым гнилям проводили с помощью изолята O18.2.

Результаты исследования. Согласно литературным данным не было выявлено значимой корреляции между корневыми гнилями и темно-бурой пятнистостью листьев [16–17].

В данной работе корреляция показателей между устойчивостью к корневым гнилям и устойчивостью к темной бурой пятнистости колеблется в районе от 0,221452 до 0,2813. Такое значение говорит о слабой корреляции между устойчивостью к двум болезням. Корреляция между показателями устойчивости к различным изолятам для проростков была достаточно высокой (от 0,609647 до 0,729975). Корреляция между устойчивостью проростковой стадии и стадии взрослых растений оказалась слабее: взрослые растения были инфицированы изолятом Ch3 и корреляция между показателями для проростков инфицированных с Ch3 и взрослыми растениями составила 0,5688.

Выявлены 7 участков генома, ассоциированные с проростковой устойчивостью ячменя к темно-бурой пятнистости. Только 1 значимый SNP на 5 хромосоме был ассоциирован с устойчивостью взрослых растений. Значимых SNP к корневым гнилям выявлено не было.

По полученным данным 12 значимых SNP (на 1, на 3, на 5 и на 7 хромосомах) были конвертированы в KASP маркеры. Для подтверждения или опровержения KASP маркеры исследовались на независимой выборке, состоявшей из 22 сортов, контрастных по устойчивости к темно-бурой пятнистости (11 устойчивых и 11 восприимчивых сортов). Устойчивые/Восприимчивые сорта были получены из ВИЗР. По данным KASP генотипирования 6 маркеров, расположенные на 3 хромосоме были подтверждены на независимой выборке и их можно исследовать дальше как потенциальные диагностические маркеры для выявления сортов устойчивых к темно-бурой пятнистости.

Полученные маркеры могут быть использованы для отбора селекционного материала, несущего нужные аллели в локусах устойчивости к темно-бурой пятнистости.

Благодарности: Работа выполнена при поддержке РНФ (грант № 16-14-00086).

Список литературы

1. Shjerve R.A., Faris J.D., Brueggeman R.S., Yan C., Zhu Y., Vaidehi Koladia V., Friesen T.L. Evaluation of a *Pyrenophora teres* f. *teres* mapping population reveals multiple independent interactions with a region of barley chromosome 6H. *Fungal Genetics and Biology* 70 (2014) 104–112.
2. Islamovic E., Bregitzer P., Friesen T. L. Barley 4H QTL confers NFNB resistance to a global set of *P. teres* f. *teres* isolates // *Molecular Breeding*. – 2017. – Т. 37. – №. 3. – С. 29. Steffenson B.J., Hayes P.M., Kleinhofs A. Genetics of seedling and adult plant resistance to net blotch (*Pyrenophora teres* f. *teres*) and spot blotch (*Cochliobolus sativus*) in barley. *Theor Appl Genet.* 1996;92:552–8.
3. Afanasenko O.S., Koziakov A.V., Hedlay P.E., Lashina N.M., Anisimova A.V., Manninen O., Jalli M., Potokina E.K. Mapping of the loci controlling the resistance to *Pyrenophora teres* F. *teres* and *Cochliobolus sativus* in two double haploid barley populations. *Russ. J. Genet. Appl. Res.* 2015;5:242–53.
4. Piening L., Orr D. Effects of crop rotation on common root rot of barley. *Canadian Journal of Plant Pathology.* 1988;10(1):61-65.
5. Steffenson B.J., Hayes P.M., Kleinhofs A. Genetics of seedling and adult plant resistance to net blotch (*Pyrenophora teres* f. *teres*) and spot blotch (*Cochliobolus sativus*) in barley. *Theor Appl Genet.* 1996;92:552–8.
6. Bilgic H., Steffenson B., Hayes P. Comprehensive genetic analyses reveal differential expression of spot blotch resistance in four populations of barley. *Theor Appl Genet.* 2005;111:1238–50.
7. Bovill J., Lehmensiek A., Sutherland M.W., Platz G.J., Usher T., Franckowiak J., Mace E. Mapping spot blotch resistance genes in four barley populations. *Mol Breed.* 2010;26:653–66.
8. Grewal T.S., Rosnagel B.G., Scoles G.J. Mapping quantitative trait loci associated with spot blotch and net blotch resistance in a doubled-haploid barley population. *Mol Breed.* 2012;30:267–79.
9. Haas M., Menke J., Chao S., Steffenson B.J. Mapping quantitative trait loci conferring resistance to a widely virulent isolate of *Cochliobolus sativus* in wild barley accession

PI 466423. Theor Appl Genet. 2016;129:1831–42.

10. Roy JK, Smith KP, Muehlbauer GJ, Chao S, Close TJ, Steffenson BJ. Association mapping of spot blotch resistance in wild barley. Mol Breeding. 2010;26:243–56.

11. Zhou H, Steffenson BJ. Genome-wide association mapping reveals genetic architecture of durable spot blotch resistance in US barley breeding germplasm. Mol Breed. 2013;32:139–54.

12. Berger GL, Liu S, Hall MD, Brooks WS, Chao S, Muehlbauer GJ, Baik BK, Steffenson B, Griffey CA. Marker-trait associations in Virginia Tech winter barley identified using genome-wide mapping. Theor Appl Genet. 2013;126:693–710.

13. Gutiérrez L, Berberian N, Capettini F, Falcioni E, Fros D, Germán S, Hayes PM, Huerta-Espino J, Herrera S, Pereyra S, Pérez C, Sandoval-Islas S, Singh R, Castro A. Genome-wide association mapping identifies disease-resistance QTLs in barley germplasm from Latin America. In: Zhang G, Li C, Liu X, editors. Advance in barley sciences. Proceedings of 11th international barley genetics symposium; 2013. p. 209–15.

14. Wang R, Leng Y, Ali S, Wang M, Zhong S. Genome-wide association mapping of spot blotch resistance to three different pathotypes of *Cochliobolus sativus* in the USDA barley core collection. Mol Breed. 2017;37:44.

15. Bykova I.V., Lashina N.M., Efimov V.M., Afanasenko O.S., Khlestkina, E.K. Identification of 50 K Illumina-chip SNPs associated with resistance to spot blotch in barley. BMC plant biology, 2017;17(2):250.

16. Kutcher H.R., Bailey K.L., Rossmagel B.G., Legge W.G. Heritability of common root rot and spot blotch resistance in barley. Canadian journal of plant pathology, 1994;16(4):287–294.

17. Almgren I., Gustafsson M., Lindgren H., Liljeroth E. Interaction between root and leaf disease development in barley cultivars after inoculation with different isolates of *Bipolaris sorokiniana*. Journal of Phytopathology, 1999;147(6):331–337.

DOI 10.18699/GPB2020-64

Молекулярно-генетический полиморфизм возбудителя листовой ржавчины на твердой пшенице в Казахстане

Рсалиев А.С.^{1*}, к.с.-х.н., зав. лаб.; Шайдаюк Е.Л.², м.н.с.; Кохметова А.М.³, д.б.н., зав. лаб.; Гультияева Е.И.², д.б.н., в.н.с.

¹Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Гвардейский, Казахстан;

²Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Россия;

³Институт биологии и биотехнологии растений, Алматы, Казахстан,

*e-mail: aralbek@mail.ru

*Изучена вирулентность и полиморфизм микросателлитных локусов у изолятов *Russinia triticipina*, выделенных с яровой твердой пшеницы, выращиваемой в Южном Казахстане в 2018 и 2019 гг. Выявлены различия в виру-*