МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФГБНУ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ АГРАРНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР СЕВЕРО-ВОСТОКА имени Н. В. РУДНИЦКОГО

ТЕХНОЛОГИЯ ОЦЕНКИ И СОЗДАНИЯ ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ, УСТОЙЧИВОГО К БИОТИЧЕСКИМ СТРЕССОРАМ

Научно-практические рекомендации

Киров
2023

УДК 633.16:632.4:631.524
ББК 42.112+44.1
Т 38

Т 38 **Технология оценки и создания исходного материала ярового ячменя, устойчивого к биотическим стрессорам.** Научно-практические рекомендации. Киров: ФГБНУ ФАНЦ Северо-Востока, 2023. 60 с. (Электронный ресурс). Режим доступа: http://fanc-sv.ru/uploads/docs/2023/Технология-2023.pdf

ISBN 978-5-7352-0173-1

Утверждено ученым советом ФГБНУ ФАНЦ Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого, протокол № 5 от 29 ноября 2023 г.

Научно-практические рекомендации подготовили: ***Т. К. Шешегова***, доктор биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунитета и защиты растений; ***И. Н. Щенникова***, доктор с.-х. наук, чл.-корр. РАН, главный научный сотрудник, зав. лабораторией селекции и первичного семеноводства ячменя; ***О. Н. Шуплецова***, доктор биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биотехнологических методов селекции сельскохозяйственных растений; ***Л. М. Щеклеина***, кандидат с.-х. наук, старший научный сотрудник лаборатории иммунитета и защиты растений; ***А. В. Харина***, кандидат с.-х. наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и селекции ФГБНУ ФАНЦ Северо-Востока.

Рецензенты:

А. С. Олькова – доктор биол. наук, доцент, профессор кафедры экологии и природопользования ФГБОУ ВО «Вятский государственный университет»;

Е. И. Уткина – доктор с.-х. наук, заведующая отделом озимой ржи ФГБНУ ФАНЦ Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого.

В издании отражено создание болезнеустойчивых сортов ярового ячменя на основе классических, биотехнологических и молекулярно-генетических методов. Подробно описана процедура моделирования фитопатоценозов на корневые гнили, гельминтоспориозные пятнистости и виды головни, приведены критерии отбора иммунологически ценных форм растений и аргументирована эффективность отбора их на инфекционных фонах фитопатогенов, показано наследование признака устойчивости к отдельным болезням и обоснован подбор родительских форм для гибридизации. Представлены генисточники устойчивости, дана агробиологическая характеристика селекционных линий и сортов, созданных с их участием. Рассмотрены возможности и преимущества маркер-вспомогательной селекции (marker-assisted selection – MAS) на устойчивость к головневым и гельминтоспориозным болезням. Показаны практические результаты и оценены перспективы использования культивирования каллусной ткани на селективных средах с токсинами грибов *Helminthosporium* spp. и *Fusarium* spp., отбора устойчивых эксплантов и регенерации растений.

Технология разработана в рамках реализации программы создания и развития Селекционно-семеноводческого центра в области сельского хозяйства для создания и внедрения в агропромышленный комплекс современных технологий на основе собственных разработок Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого» федерального проекта «Развитие масштабных научных и научно-технологических проектов по приоритетным исследовательским направлениям» национального проекта «Наука и университеты».

Предназначена для научных исследователей селекционных и биотехнологических центров, преподавателей и студентов высших учебных заведений агрономической и биологической направленности.

ISBN 978-5-7352-0173-1

УДК 633.16:632.4:631.524
ББК 42.112+44.1

© ФГБНУ ФАНЦ Северо-Востока, 2023
© Авторы, 2023

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ……..... 4

Глава 1.
ВРЕДОНОСНОСТЬ НЕКОТОРЫХ БОЛЕЗНЕЙ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ
И ВЛИЯНИЕ СРЕДОВЫХ ФАКТОРОВ НА ИХ РАЗВИТИЕ……... 6

Глава 2.
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ КАК МЕТОД СОЗДАНИЯ
УСТОЙЧИВЫХ СОРТОВ…….. 9

2.1. Некоторые примеры клеточной селекции в растениеводстве…….. 9

2.2. Использование патогенов в качестве селективного фактора в биотехнологии создания устойчивых сортов……... 10

2.3. Использование патотоксинов в биотехнологии устойчивых сортов……... 11

2.4. Применение культуральных фильтратов в биотехнологии устойчивых сортов… 12

2.5. Методика отбора сомаклонов ячменя, устойчивых к корневой гнили……... 13

2.6. Клеточная селекция ячменя на устойчивость к болезням в ФАНЦ Северо-Востока… 14

Глава 3.
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ
В ПОВЫШЕНИИ БОЛЕЗНЕУСТОЙЧИВОСТИ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ…… 17

3.1. Контроль устойчивости к *Ustilago nuda* Jens. ……... 17

3.2. Генетика устойчивости к *Ustilago hordei* Lagerh……... 20

3.3. Молекулярная идентификация видов *Ustilago* spp. ……..... 22

3.4. Контроль устойчивости к гельминтоспориозным пятнистостям……..….. 23

Глава 4.
КЛАССИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ СЕЛЕКЦИИ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ
НА УСТОЙЧИВОСТЬ К БОЛЕЗНЯМ В ФАНЦ СЕВЕРО-ВОСТОКА……. 25

4.1. Видовая структура местных популяций возбудителей ……..... 25

4.2. Методики создания искусственных инфекционных фонов и учета болезней…… 26

4.2.1. Инфекционный фон на корневые гнили ……. 28

4.2.2. Инфекционный фон на полосатую, сетчатую и темно-бурую пятнистость..... 30

4.2.3. Инфекционный фон на пыльную и твердую головню..... 36

4.3. Наследование устойчивости ячменя к некоторым болезням……... 36

4.4. Поиск и создание источников устойчивости к болезням..... 38

4.5. Эффективность индивидуального отбора на инфекционных фонах..... 43

4.6. Использование источников устойчивости в селекции ячменя……. 45

Глава 5.
АГРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НОВЫХ СОРТОВ ЯЧМЕНЯ
СЕЛЕКЦИИ ФАНЦ СЕВЕРО-ВОСТОКА…… 48

ЗАКЛЮЧЕНИЕ …….. 52

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ …….. 53

Введение

Повышение эффективности сельскохозяйственного производства на современном этапе практически невозможно без комплексной защиты растений от вредной биоты. Одним из гарантов благополучной фитосанитарной ситуации являются устойчивые сорта. Несмотря на высокий продукционный потенциал современных коммерческих сортов ярового ячменя, он часто остается нереализованным из-за воздействия эпифитотийно-опасных болезней. Это отчасти связано с интенсификацией и ориентацией селекционного процесса преимущественно на продуктивность растений, что привело к сужению генетического разнообразия (Карпухина и др., 1999). Следует учитывать также, что темпы селекции значительно уступают формообразовательному процессу патогенов, которому способствуют мутационная изменчивость, обусловленная в т.ч. чрезмерной химизацией агрофитоценозов, а также нестабильность климатических факторов. Возделывание одного сорта на больших территориях приводит к поражению его вирулентной расой, которая, не встречая конкуренции со стороны других, начинает активно развиваться до эпифитотийного уровня (Шевцов и др., 2009). Поэтому актуализируются исследования по интегрированной защите ярового ячменя, в т. ч. селекционным путем с использованием современных биотехнологических и молекулярно-генетических методов. При этом создание болезнеустойчивых и высокопродуктивных сортов должно опираться на знание вредоносности и внутрипопуляционной структуры патогенов, наличие идентифицированных доноров и эффективных источников, закономерностей наследования и генетического контроля устойчивости, связи восприимчивости генотипа с продуктивностью и другими хозяйственно важными признаками (Захаренко, 2010).

На ячмене известно около 30 болезней, вызываемых более 50 видами микроорганизмов (Афанасенко, 2005). Наибольшее распространение и экономическую значимость в Волго-Вятском регионе Российской Федерации представляют листовые пятнистости грибной этиологии: полосатая (*Drechslera graminea* (Rab. ex Schlecht) Shoem., teliomorpha: *Pyrenophora graminea* (Died) Ito et Kurib); сетчатая (*Drechslera teres* (Sacc.) Shoem., teliomorpha: *Pyrenophora teres* (Died) Drechs.; темно-бурая (*Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem, teliomorpha: *Cochliobolus sativus* (S. Ito et Kurib.) Drechsler ex Dastur); пыльная головня (*Ustilago nuda* (Jens) Rostr.) и корневые гнили (*B. sorokiniana* + *Fusarium* spp.) (рис. 1).

Рисунок 1. **Болезни ярового ячменя в Кировской области**

В отдельные годы отмечается локальное развитие ржавчинных болезней: карликовая (*Puccinia hordei* Otth.) и стеблевая (*Puccinia graminis* Pers). Реже проявляются бактериозы вегетативных органов и семян: пятнистый (*Xantho-monas translucens var. hordei*) и черный (*Bacillus cerealinum*). Частота и уровень развития основных болезней ярового ячменя в Кировской области представлены в таблице 1 (Система ведения агропромышленного …, 2000).

Таблица 1

Основные болезни ячменя и частота их проявления в Кировской области

Название болезни	Частота сильного развития за 10 лет	Потери урожая при сильном развитии, %
Полосатая пятнистость	2-3	30-40
Сетчатая пятнистость	4-5	20-30
Темно-бурая пятнистость	3-4	10-20
Корневые гнили	5-6	15-30
Пыльная головня	2-3	10-30

В создании устойчивых сортов применяются преимущественно классические методы селекции, основанные на использовании разных вариантов гибридизации с источниками и донорами, отбора иммунологически – и

селекционно-ценных генотипов с последующей их комплексной оценкой. Такая селекционная программа по селекции биотически устойчивых сортов ярового ячменя применяется и в ФГБНУ ФАНЦ Северо-Востока.

Одним из наиболее перспективных путей повышения эффективности селекционного процесса является использование современных методов биотехнологии и молекулярной биологии, позволяющих расширить спектр генетического разнообразия и сократить сроки создания сортов. Различные молекулярно-генетические методы, в т. ч. трансгеноз применяются в создании отдельных культур (картофель, соя, пшеница и др.). Использование молекулярных маркеров позволяет проводить отбор по генотипу, имеющему ряд преимуществ перед отбором по фенотипу, который используется в классической селекции. Генетические маркеры позволяют отличить гомозиготы от гетерозигот, что невозможно сделать на основе фенотипа (Хлесткина, 2013).

Глава 1
ВРЕДОНОСНОСТЬ НЕКОТОРЫХ БОЛЕЗНЕЙ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ И ВЛИЯНИЕ СРЕДОВЫХ ФАКТОРОВ НА ИХ РАЗВИТИЕ

Ущерб от болезней сельскохозяйственных растений выражается в прямых потерях урожая за счет снижения продуктивной кустистости, озерненности колоса и крупности зерна. Кроме того, из-за инфицирования зерна ухудшаются его посевные свойства и биохимические показатели. Поэтому возделывание устойчивых сортов значительно снижает эти риски, особенно, в годы эпифитотий (Коваленко, Киселева, 2001).

В наших исследованиях при искусственной инокуляции сортов ячменя селекции ФАНЦ Северо-Востока *D. graminea* и *D. teres* выявлено, в большинстве своем, существенное влияние полосатой и сетчатой пятнистости на основные элементы урожая (табл. 2). Наибольшее негативное влияние этих гельминтоспориозных болезней связано с массой 1000 зерен (r = -0,92...-0,93) и продуктивной кустистостью растений (r = -0,67...-0,76).

Для неспецифических инфекций характерно то, что любые условия, ослабляющие растения, способствуют усилению болезни. Поэтому одним из важных путей снижения их вредоносности является создание благоприятных средовых факторов для роста и развития растений. В двух полевых экспериментах (2010-2013 гг.) было проанализировано влияние средовых и техногенных факторов на развитие гельминтоспориозных пятнистостей ячменя (табл. 3). Материалом исследований служили 6 различных по восприимчивости сортов, два предшественника (озимая рожь и пласт клевера), кислотность почвы (pH_{KCl} – 4,0 и Al – 5,0 мг/100 г почвы; pH_{KCl} – 5,5 и Al – 0,5 мг/100 г почвы), сроки сева (ранний и поздний).

Таблица 2

Зависимость элементов структуры урожая ячменя от степени развития гельминтоспориозных пятнистостей (2012 г.)

Элементы структуры урожая	Коэффициент корреляции (r) ПП / СП	Коэффициент детерминации (R^2) ПП / СП	Уравнение регрессии ПП / СП
Количество продуктивных стеблей	-0,76* / -0,67*	0,574 / 0,445	У = 3,18 - 0,0068Х У = 3,54 - 0,010Х
Длина главного колоса	-0,82** / -0,35	0,675 / 0,121	У = 7,833 - 0,0120Х У = 5,75 - 0,0057Х
Количество колосков в колосе	-0,88** / -0,19	0,776 / 0,035	У = 24,90 - 0,041Х У = 50,95 - 0,020Х
Количество зерен в колосе	-0,93** / -0,06	0,862 / -	У = 24,42 - 0,0510Х У = 43,84 + 0,0065Х
Масса зерна с колоса	-0,82** / -0,44*	0,672 / 0,192	У = 1,50 - 0,0052Х У = 1,44 - 0,0019Х
Масса 1000 зерен	-0,92** / -0,93**	0,852 / 0,860	У = 53,07 - 0,04Х У = 32,82 - 0,05Х

Примечания: * – значимо при Р ≥ 095; ** – значимо при Р≥099; ПП – полосатая пятнистость, СП – сетчатая пятнистость.

Таблица 3

Вклад фиксированных факторов в распространении и развитии гельминтоспориозных пятнистостей ячменя, %

Фактор	Полосатая пятнистость		Сетчатая пятнистость	
	поражение	развитие болезни	поражение	развитие болезни
Опыт I – 3-факторный				
А – срок сева	26,6*	12,5	33,9*	18,3
В – сорт (генотип)	6,7	17,5	16,2	26,7*
С – предшественник	26,0*	1,5	8,5	2,3
АВ	30,6*	55,2*	39,4*	33,0*
АС	1,7	1,0	0,4	3,9
ВС	6,7	11,3	0,4	12,7
АВС	1,7	1,0	1,2	3,1
Р, %	8,2	8,4	10,1	11,2
Опыт II − 2-факторный				
А – pH_{KCl} фон	35,0*	42,2*	83,4*	55,2*
В – сорт (генотип)	46,8*	27,4*	5,3	20,2
АВ	18,3	30,5*	11,4	24,6*
Р, %	10,8	10,3	7,3	10,4

Примечания: * – значимо на уровне 0,05; Р, % – точность опыта

Установлено существенное влияние кислотности почвенного раствора на проявление сетчатой и полосатой пятнистости: вклад фактора в признак «поражение» составил 35,0 и 83,4 % «развитие болезни» – 42,2 и 55,2 %. Доля генотипа была значимой только в проявлении полосатой пятнистости (27,4 и 46,8 %), а взаимодействие факторов – в развитии сетчатой пятнистости (24,6 %). Таким образом, при посеве ячменя на сильнокислом фоне восприимчивость растений к болезням повышается практически в два раза по сравнению со слабокислой реакцией почвенного раствора.

Выявлен существенный вклад срока сева в признак «поражение» (26,6 и 33,9 %). При раннем посеве в сортовых биоценозах увеличивается количество растений с симптомами полосатой и сетчатой пятнистости, что обусловлено действием низких температур на прорастающие семена и задержкой всходов в этих условиях. Наши данные согласуются с результатами, полученными в исследованиях Н. А. Родиной (2006), которые показали увеличение поражения в 2-3 раза трех сортов полосатой пятнистостью, если число дней от посева до всходов составляло 11-18 дней. Поэтому ранний сев в холодную почву можно считать провокационным фоном для усиления развития гельминтоспориозных пятнистостей и корневых инфекций.

Влияние предшественника было значимо (26,0 %) только по признаку «поражение» полосатой пятнистостью. При этом более высокими фитосанитарными свойствами характеризуется пласт клевера, возделывание ячменя по которому снижает на 10,0 и 5,5 % количество растений с симптомами обеих болезней. Влияние генотипа в основном несущественное (1,7-17,5 %), за исключением биоконтроля развития сетчатой пятнистости (26,7 %). Однако степень поражения в большей степени (30,6-55,2 %) обусловливает взаимодействие факторов: «генотип» и «срок сева».

Таким образом, повышенная кислотность почвы и посев ячменя в холодную почву, особенно, по зерновым предшественникам территориально расширяют распространение гельминтоспориозных пятнистостей в сортовых биоценозах. Вклад генотипа увеличивается в качественном иммунологическом признаке – «развитие болезни», который наиболее тесно связан с элементами продуктивности растений. Поэтому создание слабопоражаемых сортов, в т. ч. с помощью биотехнологических работ, повышает экономическую эффективность производства зерна.

Глава 2
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ КАК МЕТОД СОЗДАНИЯ УСТОЙЧИВЫХ СОРТОВ

2.1. Некоторые примеры клеточной селекции в растениеводстве

В сельскохозяйственной биотехнологии значительное место занимает клеточная селекция, основанная на отборе клеточных популяций, устойчивых к селективному биотическому фактору, и регенерации из них растений. Сомаклональная изменчивость, возникающая в процессе культивирования клеток, может служить важным источником получения нового исходного материала. Данный метод активно использовался в ФАНЦ Северо-Востока в конце прошлого и начале XXI века для создания форм ячменя, устойчивых к грибным болезням.

Как правило, работу проводят на первичной или пересадочной каллусной ткани, которая не утрачивает способности к регенерации на протяжении ряда субкультивирований. В питательной среде с введенным стрессором непосредственно взаимодействует большинство клеток каллусов. Однако при работе с каллусными культурами многие исследователи отмечают существенные недостатки данного объекта: медленный рост ткани, неравноценное для всех клеток действие селективного фактора, а также потеря регенерационной способности в процессе культивирования клеток (Шевелуха и др., 2008; Кильчевский, Хотылева, 2012; Решетников и др., 2014; Сельдимирова и др., 2018). Кроме того, работы, проведенные с получением растений, устойчивых к микотоксинам, выделенным из грибов – возбудителей болезней, показали, что устойчивость клетки и растения к исследуемому селективному фактору может совпадать и не совпадать (Калашникова, 2012).

Для скрининга устойчивых форм в изолированной культуре клеток и тканей используют разнообразные объекты отбора *in vitro* – каллусные и суспензионные культуры, зародыши / эмбриокультуры, меристемы. Разнообразны и селективные агенты в составе питательных сред. Для создания устойчивых к болезням сомаклонов селективными агентами являются продукты жизнедеятельности микроорганизмов: культуральный фильтрат, фитотоксин возбудителя болезни (белковой и небелковой природы) или сам возбудитель в культуральных средах (Калашникова, 2003).

Для многих видов растений методом клеточной селекции получены формы, обладающие повышенной устойчивостью к болезням. Среди них сорта моркови и картофеля, устойчивые к септориозу (*Septoria*), моркови – к альтернариозу (*Alternaria radicina*), картофеля – к ризоктониозу (*Rhizoctonia solani* J. G. Kuhn) (Раскалиева, 2001; Калашникова, 2003) и фитофторозу (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary.) (Леонова, 2010), льна-долгунца – к фузариозному

увяданию (*Fusarium oxysporum* sp. linii (Пролетова, 2003), огурца – к фузариозу (*Fusarium oxysporum* f. sp. cucumerinum) (Лаврова, 2006; Ткачева, 2007), сахарного тростника – к бурой ржавчине (*Puccinia kuehnii* (Krüger) Butl.) (Arellano et al., 2011). Получены также клеточные линии овса, устойчивые к патотоксину викторин (Rines, Luike, 1985), кукурузы – к фильтрату *Helminthosporium maydis* (Gergenbach, Green, 1975). Созданы устойчивые к фузариозу (*Fusarium* spp.) (Мепаришвили, 2003; Лаврова, 2006; Савицкая и др., 2013) и септориозу (*Septoria nodorum*) (Лети Джос, 1998; Калашникова, 2003) регенерантные линии пшеницы, ячменя – к возбудителям корневых гнилей (Манешина и др., 1994; Сорокатая, 2001; Сурин и др., 2002; Зобова, 2009; Сурин, Ляхова, 2012).

2.2. Использование патогенов в качестве селективного фактора в биотехнологии устойчивых сортов

Наиболее простой подход в селекции *in vitro* на устойчивость к болезням связан с культивированием растительных клеток непосредственно в присутствии патогена. Этот подход может быть особенно полезным, когда недостаточно информации о токсических веществах, ответственных за патогенез, или если патоген не продуцирует токсины. Однако этот метод селекции *in vitro* может быть результативным при правильном выборе стадии жизненного цикла патогена и соответствующих условий совместного культивирования его с растительными клетками. Эти исследования были начаты еще в 1965 году и направлены на изучение корреляции устойчивости / чувствительности к патогену *in vivo* и *in vitro.* Данный этап в работе позволял оценить экспрессию признака устойчивости на клеточном уровне и в целом определить правомерность предлагаемых схем отбора *in vitro* устойчивых форм. Известны исследования по совместному культивированию разных рас *Phytophthora infestans* с суспензионными культурами сортов картофеля, различающихся по чувствительности к патогену (Каримова и др., 2013). Обнаружена также тесная корреляция устойчивости при взаимодействии *Phytophthora parasitica* с клетками табака (Colas et al., 1998). Удалось увеличить выход устойчивых форм сельдерея при высаживании регенерирующих побегов на среду, заселенную *Fusarium oxysporum* (Иванова и др., 2004). Успешно использовались в качестве эксплантов незрелые соцветия проса, зараженные *Sclerospora graminicola*, для выделения устойчивых к склероспорозу растений (Lavanya et al., 2018). Однако по культуре *Hordeum* подобных исследований не выявлено.

2.3. Использование патотоксинов в биотехнологии устойчивых сортов

Один из перспективных методов селекции болезнеустойчивых растений основан на использовании в качестве селективного агента патотоксинов (микотоксинов), которые обычно синтезируются патогенами. По действию патотоксины делят на три категории. К первой относятся токсины, которые не являются определяющими в заболевании, обладают неспецифическим действием по отношению к хозяину и токсичны для широкого круга растений. Примером может служить табтоксин, продуцируемый *Pseudomonas cyringae pv. tabaci*, являющийся возбудителем бактериальной рябухи табака. Очищенный токсин не вызывает типичных симптомов болезни и в отличие от не очищенного токсина не ингибирует глутаминсинтетазу. Активной формой токсина является табтоксинин β-лактам, представляющий собой продукт гидролиза табтоксина.

Вторая категория патотоксинов обладает такой же специфичностью по отношению к растениям, как и патоген, но они также не ответственны за развитие болезни. Сюда относится Т-токсин расы Т *Helminthosporium mayis*, вызывающий гельминтоспориоз кукурузы. Раса Т патогена образует Т-токсин, который специфичен для растений кукурузы, несущих цитоплазматический ген Tms, ответственный за цитоплазматическую мужскую стерильность (ЦМС). Растения с нормальной цитоплазмой не поражаются токсином. Культивирование клеток в присутствии Т-токсина, как селективного фактора, было использовано для получения растений кукурузы, устойчивых к гельминтоспорозу. Эмбриогенные каллусные ткани из восприимчивых линий кукурузы пассировали в течение нескольких пассажей в присутствии сублетальных доз Т-токсина. Изолированные клоны сохраняли устойчивость в течение нескольких месяцев при культивировании на неселективных средах. Получены также устойчивые к *Helminthosporium oryzae* растения риса при культивировании каллусной ткани в присутствии Н-токсина данного патогена. Как показал анализ потомства R_1 выделенных растений, устойчивость к гельминтоспориозу *(H. oryzae*) наследуется доминантно (Gergenbach, Green, 1975).

Третья категория включает патотоксины, которые хозяинспецифичны и вызывают типичные признаки болезни. Хорошим примером является токсин викторин, который продуцирует возбудитель гельминтоспориоза овса. Специфичность токсина зависит от присутствия у хозяина гена, отвечающего за устойчивость и к *Puccinia coronata*. В исследованиях Rines, Luike (1985) среди каллусных культур линий овса, гетерозиготных по доминантной чувствительной аллели Vb, были выявлены растения, нечувствительные к этому токсину. Аллель Vb одновременно контролирует устойчивость к *H. victoriae* и нескольким расам *P. coronata*. Следует отметить, что токсины рода *Helminthosporium* широко

применяются и в биотехнологии регенератных линий других зерновых культур, в частности, ярового ячменя (Родина, 2006).

Большинство токсинов имеют единственную метаболическую мишень в клетках хозяина, и признак устойчивости находится под простым генетическим контролем. Однако правомерность схем клеточной селекции на биотическую устойчивость может непосредственно зависеть от механизма действия токсинов. Отдельные виды патогенов (облигатные паразиты) поражают клетки, а затем выделяют токсин; другие (облигатные сапрофиты) – сначала выделяют токсины, которые убивают клетки, затем используют продукты их распада для питания. Естественно, в первом случае не будет корреляции между устойчивостью *in vitro* и *in vivo*. Проведение селекции на клеточном уровне целесообразно лишь во втором случае.

2.4. Применение культуральных фильтратов фитопатогенов в биотехнологии устойчивых сортов

В отношении многих патогенов, для которых патотоксины в чистом виде не выделены или не изучены, в качестве селективного фактора используются культуральные фильтраты. Необходимой предпосылкой их применения является определение их роли в заболевании, изучение корреляции устойчивости к патогену у растений и культивируемых *in vitro* клеток. Так была обнаружена прямая корреляция между устойчивостью гвоздики к фузариозному увяданию *in vivo* и устойчивостью *in vitro* к культуральной жидкости *Fusarium oxysporium* sp. dianthi. В этом случае устойчивые к патогену сорта гвоздики характеризовались аккумуляцией фитоалексинов в каллусных тканях. Следует отметить, что в свое время фильтраты культуральных жидкостей видов *Fusarium* spp. и *Helmintosporium* spp. широко использовались в ФАНЦ Северо-Востока для выявления устойчивых сортов ярового ячменя и озимой ржи в начале онтогенеза растений (Родина и др., 1991).

В настоящее время достигнут значительный прогресс в изучении молекулярных механизмов устойчивости растений к болезням. Например, фитоалексины или другие биохимические индикаторы устойчивости, биосинтез которых можно индуцировать биотическими или абиотическими элиситорами у культивируемых клеток и протопластов, возможно применять в оценке стрессоустойчивости клеточных линий растений (Озерецковская, 1994). Известно также, что металлы индуцируют различные PR-гены растений, которые задействованы и в раннем ответе растений на патогены (Maltais, Houde, 2002; Яруллина и др., 2009). Доказано участие фенольных соединений в адаптации клеток к действию стресс-фактора. Более высокое их накопление характерно для устойчивых к экзометаболитам клеточных культур, по сравнению с неустойчивыми. Значительная роль

в этом процессе принадлежит фенольному полимеру лигнину, ограничи-вающему проникновение культурального фильтрата патогена в клетки за счет лигнификации клеточной стенки. В растениях-регенерантах выявлено не только повышение содержания фенольных соединений, но и изменение их качественного состава (Калашникова, 2003). Одним из ферментов, активность которых возрастает при патогенезе, является оксалатоксидаза. Образующийся с ее участием пероксид водорода с помощью другого фермента пероксидазы, способен окислять фенольные соединения, что прямо связано с лигнификацией клеточных стенок. Возможно, что усиление метаболизма фенольных соединений, приводящих к укреплению клеточной стенки растений-регенерантов, будет препятствовать проникновению через нее не только Al^{3+}, но и возбудителей грибных болезней.

2.5. Методика отбора сомаклонов ячменя, устойчивых к корневой гнили

Исходя из того, что патоген вызывает заболевание растений посредством выделяемых токсинов, теоретически можно считать вполне оправданным использование их в качестве селективного фактора для отбора устойчивых к корневой гнили клеточных линий и целых растений.

На примере исследований Г.В. Манешина с авторами (1994) покажем процедуру получения эмбриогенного каллуса ячменя, для чего использовали незрелые зародыши различных сортов. Прежде чем приступить к изучению возможности отбора токсиноустойчивых растений через культуру клеток *in vitro,* необходимо выяснить влияние культурального фильтрата (КФ) гриба *H. sativum* на эффективность каллусо- и органогенеза. С этой целью авторами отработана методика выращивания гриба *H. sativum* и получения КФ, содержащего токсин. Токсические свойства оценивали по ростовым эффектам на нескольких злаковых культурах. Для этого семена или проростки с длиной корешков до 2 см помещали на 1 час в раствор культурального фильтрата, а контрольные в воду. Затем их несколько раз промывали дистиллированной водой и инкубировали в термостате в течение суток. Учитывали процент прорастания семян, измеряли длину побегов и корешков. Токсичными считали культуры, вызывающие снижение всхожести семян или угнетение роста проростков и корней не менее чем на 30 % по сравнению с контролем. В дальнейшем фитотоксическую активность КФ оценивали только по корневому биотесту.

Полученный таким образом фильтрат использовали в качестве добавки к питательной среде для индукции и роста каллуса. Были апробированы две питательные среды – МС и В-5. Наиболее эффективной для каллусообразования и органогенеза в случае использования зрелых зародышей отмечена среда В-5

с 2-3 мг/л 2,4-Д. Концентрация фильтрата в питательной среде составляла 5, 25, 50 и 80 %. Как показали эксперименты, инициация каллусов идет успешно при всех использованных концентрациях КФ.

Для получения сомаклонов необходимо, чтобы клетки каллусной ткани прошли не менее одного цикла отбора на селективной среде. С этой целью каллусы, образовавшиеся в нулевом пассаже, переносили на среду для регенерации (В-5 без фитогормонов) без добавления КФ. Эксперименты показали высокий органогенез уже в первом пассаже, а наиболее высокий выход регенерантов получили при 25 и 50 %-ных концентрациях фитотоксина.

На основании проведенных опытов была разработана методика (Родина и др. 1991) по получению на селективных средах устойчивых к фитотоксину каллусов и растений-регенерантов из незрелых зародышей ячменя и обосновано использование метода отбора сомаклонов в культуре *in vitro* для создания новых селекционно ценных форм ячменя, устойчивых к корневым гнилям.

2.6. Клеточная селекция ячменя на устойчивость к болезням в ФАНЦ Северо-Востока

В ФАНЦ Северо-Востока исследования по биотехнологии болезнеустойчивых сортов ярового ячменя начаты в 90-х годах прошлого столетия и были направлены на повышение устойчивости культуры к наиболее распространенным и эпифитотийно-опасным в регионе корневым гнилям. В этом направлении селекции, кроме гибридизации, впервые были предприняты попытки использования методов сельскохозяйственной биотехнологии. Регенеранты ячменя создавались на селективных средах с фитотоксинами грибов *D. graminea, B. sorokiniana, F. culmorum* (рис. 2 и 3).

Рисунок 2. **Культивирование каллусной ткани на селективных средах**

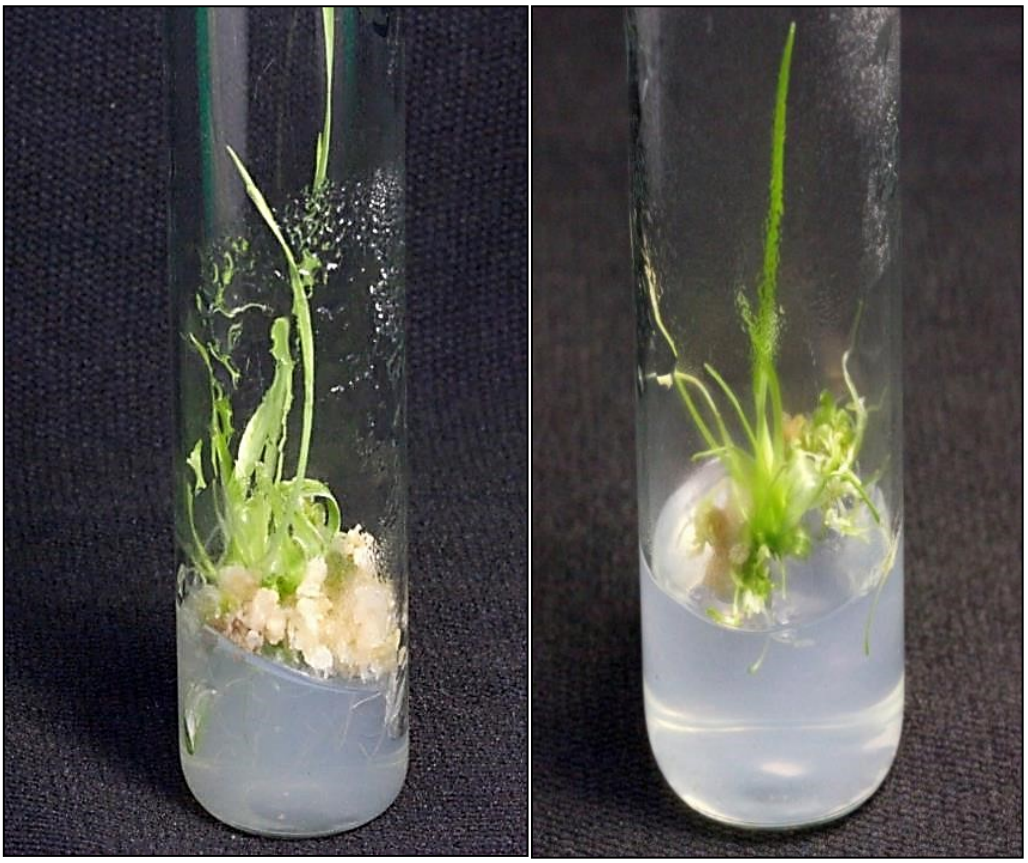

Рисунок 3. **Регенерация растений**

Изучение их в полевых условиях показало устойчивость некоторых (РТД 74-90, 94-90, 97-90 – отборы из сорта Икар; 9-90 – удвоенный гаплоид) к корневым гнилям (Родина, 2006). Обнаружена также возможность получения менее восприимчивых к полосатой пятнистости регенерантов при самых высоких концентрациях токсина *D. graminea* (табл. 4).

Таблица 4

Соотношение регенерантов ячменя по восприимчивости к полосатой пятнистости в зависимости от концентрации токсина *D. graminea*

Концентрация токсина, мг/л	Поражение, %						
	0	1…10	11…20	21…30	31…40	41…50	50
23	-	5,8	23,5	17,6	35,2	17,6	-
90	-	25,0	-	41,7	16,7	0,0	-
225	-	-	50,0	25,0	25,0	-	-
405	13,0	8,7	43,5	13,0	17,4	4,3	-

В первый год из-за небольшого количества семян регенеранты изучали на соответствующих селективным средам инфекционных фонах, на следующий год каждый из них параллельно оценивали и на других фонах. Это позволило получать обширную информацию и оценивать устойчивость к разным гель-

минтоспориозным патогенам. Наиболее устойчивые формы далее изучали в контрольном питомнике по урожайности и другим хозяйственно ценным признакам. Полевые оценки на инфекционном фоне показали, что потери урожая у отдельных регенерантов значительно меньше, чем у исходных сортов (табл. 5).

Таблица 5

Изменчивость продуктивности регенерантов сорта Дина на инфекционном фоне *B. Sorokiniana, %*

Вариант	Развитие болезни	Снижение показателей продуктивности по сравнению с естественным фоном *B. sorokiniana*	
		масса зерна с растения	масса зерна с делянки
Дина – исходная форма	17,8	26,5	30,4
Регенерантная линия 1	4,8	0	0
Регенерантная линия 2	1,6	2,1	1,5

Среди регенерантов, полученных на селективных средах с токсинами грибов *D. graminea, B. sorokiniana, F. culmorum*, были выделены три линии, достоверно превышающие стандарт по урожайности, которая составила 5,77, 6,12 и 6,33 т/га соответственно. При этом одна из линий слабовосприимчива к полосатой пятнистости и пыльной головне, другая практически устойчива к полосатой пятнистости. Тем не менее, у большинства регенерантных линий между устойчивостью на клеточном уровне и устойчивостью растений связь слабая. Кроме того, для регенерантов характерно сильное варьирование по годам иммунологических показателей, что негативно отражалось на продуктивности растений и урожайности генотипов. Поэтому на этом этапе биотехнологии отбор в культуре каллусной ткани устойчивых к микотоксинам генотипов не принес значительного практического успеха, что обусловило необходимость поиска альтернативных подходов к решению проблемы (Широких и др., 2004). Вероятно, в дальнейшие поисковые исследования в этом направлении необходимо включать новый генофондный материал ярового ячменя.

Впоследствии была разработана методика селекции с комплексной устойчивостью к болезням (Родина, 2006). Гибриды F_1, полученные с использованием генов *Run*, инокулировали суспензией спор *U. nuda* и *D. graminea*. В F_2 и F_3 инокуляцию повторяли с одновременным скринингом устойчивых форм. В F_4 линии оценивали на инфекционном фоне возбудителей корневых гнилей и последующим отбором устойчивых и высокопродуктивных растений. В дальнейшем селекционная ценность получаемых сомаклонов была увеличена путем проведения в каллусных культурах отборов, направленных на повышение

устойчивости к почвенной кислотности и токсичности алюминия, осмотическому стрессу и токсинам фитопатогенных грибов. Оценка в полевых условиях показала, что регенерантные линии, устойчивые к абиотическим стрессам, обладали выносливостью к корневым гнилям, полосатой и сетчатой пятнистости. В результате иммунологической оценки на естественных и инфекционных фонах возбудителей этих болезней выделены четыре линии (917-04, 530-98, 496-07, 781-04), у которых степень поражения была достоверно ниже стандартов Нур и Биос 1 (Шешегова и др., 2012; Щенникова и др., 2013; Шуплецова, Щенникова, 2016; Шуплецова и др., 2017). Очевидно, наблюдаемые кросс-адаптации становятся возможными, благодаря активации на клеточном и молекулярном уровнях ряда механизмов, участвующих в формировании общей ответной реакции растения на стрессовые воздействия (Шаяхметов и др., 2004).

Глава 3
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ В ПОВЫШЕНИИ БОЛЕЗНЕУСТОЙЧИВОСТИ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ

Одним из наиболее перспективных методов получения принципиально новых генотипов сельскохозяйственных растений является маркер-вспомогательная селекция (marker-assisted selection – MAS). Метод позволяет в короткие сроки определить наличие экономически значимых генов в геноме исследуемых растений, с тем чтобы использовать их в дальнейшей работе. Он основан на отборе по признакам, контролируемым кластером генов или отдельными генами, и которые можно определить с помощью молекулярно-генетического анализа (Ell et al., 2000; Willits, 2007; Леонова, 2013; Ali, 2014).

3.1. Контроль устойчивости к *Ustilago nuda* Jens.

У культуры *Hordeum sativum* Jessen. молекулярно-генетические исследования наиболее развиты в селекции на устойчивость к головневым болезням. Изучение контроля к возбудителю пыльной головни (*U. nuda*) начато еще в 30-х годах в США и Канаде (Livingston, 1942; Metcalfe, 1962, 1966; Moseman, 1969). Группу генов, обеспечивающих резистентность к данному патогену, обозначают символами *Run* или по другой номенклатуре – *Un.* В настоящее время зафиксировано 15 генов устойчивости ячменя к *U. nuda* (табл. 6) (Терещенко, 2001; Ardiel et al., 2002; Chelkowski et al., 2003; Grewal et al., 2004; Grewal et al., 2008a; Grewal et al., 2008б; Радченко, 2008).

Следует отметить, что эффективность идентифицированных *Run*-генов в регионах Российской Федерации выражена неодинаково (Гаркавый, Кирдогло, 1980), что связано с расовым составом местных популяций *U. nuda*. Наиболее

эффективны гены устойчивости *Un 3, Un 6* (Menzies et al., 2010; Мешкова и др., 2020), *Un 8, Un 12, Un 13* и *Un 15* (Кривченко, Хохлова, 1980; Кривчинко, 1984; Кривчинко и др., 1987; Кривчинко, Одинцова, 1988).

Таблица 6

Гены устойчивости ячменя к *U. nuda*

Ген	Сорт	Эффективность**
Run 1=Un 1a	Trebi, Compana, Fregal, Titan, Valkie, Velvon, Warrior.	Низкая
Run 2=Un 2	Missouri M.E.B.	
Run 3=Un 3	Jet, Abyssinian, Keystone, Bonanza, Hazar, Dyeddan, Congyest, Emir, Montoni, Nigrinudum, Orze palestina nudo, Paragon, Trent (у всех +Un 6).	Высокая
Run 4=Un 4	Dorsett	Низкая
Run 5=Un 5	X-173-10-5-6-1	Не изучалась
Run 6=Un 6	Bifarb, Br-5479-680, Br-5479-754, Keystone, Kitchin, Stendelli, Атлант, Белогорский.	Высокая
*run 7=n 7**	Anoidium	Низкая
Run 8=Un 8	Milton, PR-28, PR-522, Первенец, Нутанс 80, Суздалец, Рахат.	Высокая
Run 9=Un 9	OAC-21(+Un 10)	Низкая
Run 10=Un 10		
Run 11=Un 11	Линия 8728	Средняя
Run 12=Un 12	Линия 6823	Высокая
Run 13=Un 13	К-19907, Местный, Монголия.	
Run 14=Un 14	Korol	Средняя
Run 15=Un 15	Hiproli, Sister line, Л-27-13, Л-38-10.	Высокая

Примечания: * – рецессивный ген. ** – эффективность дана по Н. А. Терещенко, 2001; G. S. Ardiel et al., 2002; J. Chelkowski et al., 2003; T. S. Grewal et al., 2004; T. S. Grewal et al., 2008 б; Е. Е. Радченко, 2008.

Виды и сорта ячменя с геном *Un 6* сохраняют высокую устойчивость к возбудителю пыльной головни в течение длительного времени. В условиях Кировской области гены *Un 3* и *Un 6* эффективны уже более четверти века (Родина, 2006). Носитель этих генов эфиопский сорт Jet использован при создании сорта Эколог, который сохраняет невосприимчивость к пыльной головне до настоящего времени и характеризуется неспецифической устойчивостью к полосатой пятнистости. Поэтому в настоящее время активно используется в различных вариантах скрещиваний в качестве источника признака (Щенникова и др. 2022). Однако этот донор несет два нежелательных признака: низкую продуктивность и формирование голого зерна черного цвета. Это усложняет и удлиняет селекционный процесс при использовании донора Jet.

Тщательный молекулярно-генетический анализ выполнен и по гену *Un 8* (Eckstein et al., 2002; Нижегородцева и др., 2015; Zang et al., 2015), в результате чего установлен плейоморфизм, свидетельствующий о сцепленности *Un 8* с геном В/Ь, контролирующим черную/желтую окраску цветковой чешуи перикарпа. Ранее проведенными исследованиями (Хохлова, 1990) выявлены отечественные сорта Первенец, Суздалец и Рахат – носители гена *Un 8.* При этом сорт Первенец характеризуется комплексной устойчивостью к пыльной и твердой головне, а также корневым гнилям и отличается высоким содержанием белка в зерне. Сорт Рахат в условиях Кировской области выделяется также неспецифической устойчивостью к сетчатой пятнистости (Шешегова, Щенникова, 2020).

В лаборатории молекулярной биологии и селекции были продолжены исследования по поиску гена *Un 8* в новом исходном материале ярового ячменя. Для этого семена девяти коллекционных образцов были пророщены в рулонах фильтровальной бумаги. Выделение ДНК из 5-дневных проростков произведено методом CTAB (Röder et al., 1998). Для идентификации *Run*-генов использовались SSR-маркеры, взятые из БД GrainGenes (2021). Состав реакционной смеси на 10 мкл: ДНК – 2 мкл, 10 х PCR буфер – 1 мкл (1,5 мМ MCl_2); смесь dNTPs (2mM) – 1,0 мкл, по 1 мкл прямого и обратного праймера, Taq-полимераза – 3,75 ед., вода mQ – 3,25 мкл. В процессе исследований были подобраны наиболее подходящие праймеры для выявления *Un 8* гена и оптимальные условия проведения полимеразной цепной реакции (табл. 7). ПЦР-анализ выполнен на амплификаторе ТП4-ПЦР-01-«Терцик» («НПО ДНК-технология»). ПЦР-продукты были разделены в процессе вертикального электрофореза в полиакриламидном геле и окрашены бромистым этидием. Результаты электрофореза документировали с помощью видеосистемы «Взгляд» и ПО «IC Measure» («Компания Хеликон»). Размер амплифицированных фрагментов определяли с использованием 100bp + 2Kb + 3Kb ДНК-маркеров веса (компания «СибЭнзайм»).

Таблица 7

ДНК-маркеры и условия проведения ПЦР, использованные для выявления гена *Un 8* в коллекционных образцах ярового ячменя

Название праймера	Последовательность праймера	Расчетная температура отжига, °С	Размер ампликона, п.н.
ABC 261 F	AAAGTCAAGAGTTGCATCAA	45,6	300
ABC 261 R	AGGAAGCTCAAGAAGGTGAA	49,7	300

В результате ПЦР-анализа, маркеры, связанные с геном устойчивости *Un 8*, выявлены у четырех изученных сортов: Нургуш, Эколог, Надежный и Медикум 125 (рис. 4).

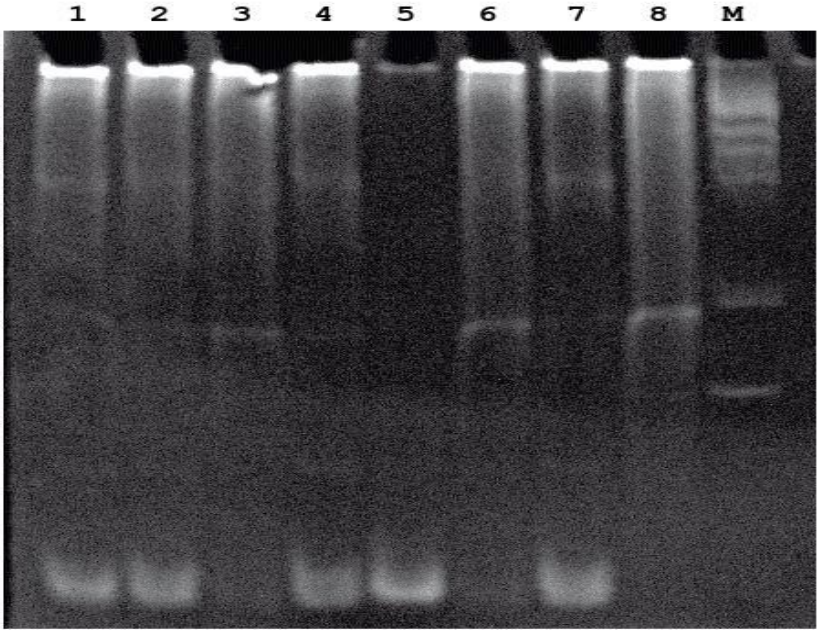

Рисунок 4. **Электрофореграмма в 7 %-ном нативном полиакриламидном геле ПЦР-продуктов с праймерами ABC 261 F/ABC 261 R. Образцы ДНК сортов на дорожке: 1 – Надежный, 2 – Нургуш, 3 – Раушан, 4 – Эколог, 5 – Веслец, 6 – CI 11084, 7 – Медикум 125, 8 – отрицательный контроль, M − маркер 100bp (Сибэнзим), (размер бэндов снизу вверх: 100, 200, 300 п. н.)**

Таким образом, у сорта Эколог на новом этапе селекции и формообразовательного процесса местной популяции *U. nuda* обнаружен еще один ген (*Un* 8), обеспечивающий биоконтроль устойчивости к пыльной головне. Новые сорта-доноры генов *Un* рекомендуется использовать в скрещиваниях для передачи устойчивости к пыльной головне. В дальнейшем гибриды F_2 должны быть проанализированы на наличие их в генотипе с целью отбора иммунных.

3.2. Генетика устойчивости к *Ustilago hordei* Lagerh.

Гены устойчивости ячменя к каменной головне обозначаются символом *Ruh*. Ранними исследованиями (Wells, 1958) установлена локализация гена *Ruh 1* на коротком плече хромосомы 1 (7H). Выявлено, что сорта Titan, OAC 21, Anoidium и Ogalitsu имеют идентичный доминантный ген *Ruh.* Кроме того, сорт Anoidium содержит еще один доминантный ген – *Ruh 2*, Ogalitsu и Titan – по одному рецессивному гену *ruh 3* (табл. 8). Один рецессивный ген *ruh 4* имеет сорт Jet. (Metcalfe,1966) Автор также отмечает, что этот же ген контролирует невосприимчивость к *U. nigra* – возбудителю черной головни. Таким образом, уникальность сорта Jet заключается наличием в геноме трех генов, обеспечивающих устойчивость ко всем головневым болезням ячменя.

Доказана высокая эффективность сортов CI 13664 и Джау Кабутак в качестве доноров устойчивости к местным популяциям *U. nigra* и *U. hordei* (Легкун, 2015). Данная информация особенно ценна в отношении сорта CI 13664 (носителя гена *Run 8*), который, являясь эффективным донором устойчивости к пыльной

головне (Zang et al., 2015), оказался источником резистентности еще и к черной. Устойчивость к *U. nigra* и *U. hordei* контролируется двумя доминантными генами – *Rung* и *Ruh,* которые с высокой вероятностью наследуются сцепленно.

Таблица 8

Гены устойчивости сортов ярового ячменя к *U. hordei*

Ген	Сорт	Эффективность*
Ruh	Titan, OAC-21, Anoidium, Ogalistu	Низкая
Ruh 2	Anoidium	
ruh 3	Titan, Ogalistu	Средняя
ruh 4	Jet	
Ruh R 1	Hannchen, Vantage	Низкая
Ruh R 2	Excelsior	

* – эффективность дана по D. R. Metcalfe (1966).

С целью определения наиболее воспроизводимых и информативных праймеров для проведения амплификации проанализирована известная отечественная и зарубежная научная литература, в результате чего были отобраны четыре пары праймеров (табл. 9). Амплификацию специфического локуса ядерной ДНК, маркирующего ген *Ruh*, проводили с помощью SCAR-праймера UhR450, STS-праймера aHor2 и двух RAPD-праймеров OPO6780 и OPJ10450, разработанных T.S. Grewal и G.S. Ardiel с сотрудниками (Ardiel et al., 2002; Grewal et al., 2004, Grewal et al., 2008a).

Таблица 9

Маркеры, сцепленные с геном устойчивости к *U. hordei*

Ген	Маркер (тип)	Праймеры для ПЦР-анализа	ПЦР-продукт (п. н.)
Ruh	UhR450 (SCAR)	ULR1-F: 5/-GATAAGGATGTTCCGCC-3/ (17 н.) ULR-R: 5/-CCCGAGGTCCAAAATCAG-3/ (18 н.)	442
	aHor2 (STS)	KV1: 5/-CCACCATGAAGACCTTCCTC-3/ (20 н.) KV9: 5/-TCGCAGGATCCTGTACAACG-3/ (20 н.)	1100 / 800
	OPO6780 (RAPD)	OPO6: 5/-CCACGGGAAG-3/ (10 н.)	780
	OPJ10450 (RAPD)	OPJ10: 5/-AAGCCCGAGG-3/ (10 н.)	450

Продукты амплификации разделяли электрофорезом в 2%-ном агарозном геле в буфере TBE (pH 8,0), содержащем этидий бромид, с последующей визуализацией результатов в ультрафиолетовом трансиллюминаторе BioRad (λ = 310 нм). В качестве маркеров длины фрагментов ДНК использовали маркеры молекулярной массы 100 bp + 50 bp DNA Ladder производства ООО «СибЭнзим-М», г. Москва (Вильданова и др., 2015).

3.3. Молекулярная идентификация видов *Ustilago* spp.

С целью дальнейшего изучения генетической природы устойчивости ячменя к видам головни и выявления доноров признака необходимо создание искусственных инфекционных фонов для оценки коллекционного и селекционного материала. Исходя из того, что симптомы поражения колоса ячменя видами пыльной и каменной головни очень схожи, есть опасность неправильного отбора биоматериала (телиоспор *U. nuda* и *U. hordei*) для инокуляции тем или иным патогенам. Поэтому был проведен анализ генома взаимодействующих с растениями микроорганизмов рода *Ustilago* и осуществлена молекулярно-генетическая идентификация патогена. Споровая масса для определения видовой принадлежности *Ustilago* взята с пораженного колоса ячменя. В результате анализа подобрана пара праймеров для идентификации грибов рода *Ustilago* (табл. 10).

Таблица 10

Праймеры для проверки отжига в ДНК грибов рода *Ustilago*

Образец ДНК	Праймер	Температура отжига, ºС
Ustilago 1	CTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAAC	57
Ustilago 2	GGTATTCCTACCTGATTCGAGGTCAACTC	59

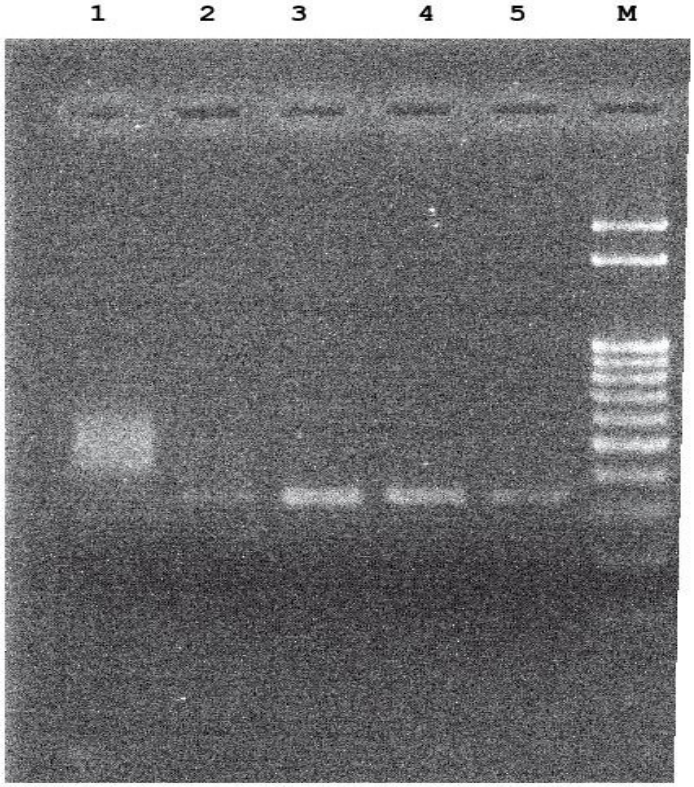

Рисунок 5. **Электрофореграмма образцов ДНК грибов после амплификации в 1,5%-ном ПААГ. Дорожка № 1 – матрица ДНК *Ustilago* spp. (ДНК выделена из спор колоса ячменя), дорожка № 2 – матрица ДНК *Tilletia* spp. (ДНК выделена из спор пшеницы – контроль), М – маркер Сибэнзим 100 b.p. + 2Kb + 3Kb**

Как видно из рисунка 5, высокая интенсивность свечения полос на геле наблюдается на дорожке № 1 – ПЦР образца ДНК *Ustilago* spp., выделенное из спор колоса ячменя. Для сравнения результата в качестве отрицательного контроля был взят образец ДНК *Tilletia* spp., выделенный из споровой массы зерна яровой пшеницы. Свечения на дорожке № 2 с этим образцом не наблюдали, что свидетельствует об использовании подобранных праймеров только на *Ustilago* spp.

Для дальнейшей идентификации возбудителей головневых болезней необходимо определение нуклеотидной последовательности – секвенирование. Анализ результатов секвенирования, проведенный в ЗАО «Евроген Ру», показал, что полученный ПЦР-продукт из ДНК инфекционного биоматериала с колоса ячменя на 91,9 % идентифицирован как *Ustilago hordei* – возбудитель твердой головни. Поэтому для болезней, имеющих схожие симптомы поражения, необходима предварительная молекулярно-генетическая идентификация возбудителя.

3.4. Контроль устойчивости к гельминтоспориозным пятнистостям

Гены Pt и QTL, детерминирующие устойчивость к сетчатой пятнистости ячменя (*Pyrenophora teres* f. teres – син. *Dreschlera teres*), локализованы почти на всех хромосомах ячменя: 1H, 2H, 2HS, 2HL, 3HL, 4H, 5H, 6H, 7H (Афанасенко, 2013; Донцова, 2015). В более ранних публикациях показано, что на хромосоме 6H локализован ген, детерминирующий устойчивость к *P. teres* у сортов Steptoe (Steffenson et al., 1996), TR 306 (Spaner et al., 1998), Kaputar (Cakir et al., 2003), Chevron (Ma et al., 2004), ND11231*12 (Emeberi et al., 2005) и Pompadour (Gupta et al, 2010). Принято считать, что на хромосоме 6H имеется кластер из нескольких генов устойчивости к *P. teres* (Manninen et al., 2006; Gupta et al., 2010). Анализ дигаплоидов с использованием шести типов ДНК-маркеров позволил выявить в хромосоме 6H доминантный ген, эффективный против восьми изолятов *P. teres* различного происхождения – из США, Великобритании, Финляндии и Канады (Афанасенко и др., 2000). По данным C. Y. Mode и C. W. Schaller (1958), устойчивость сортов Ming, Harbin и Manchuria (CI 2335) контролируется одним общим геном *Pt2*; сорта Canadian Lake Shore и CI 4922 несут 2 дупликатных гена *Pt2* и *Pt3* (Лашина, 2015). В селекционных программах на устойчивость к сетчатой пятнистости рекомендуются три эффективных гена: *Rpt 1b*, *Rpt 5*, *Rpt 6*. Высокоэффективный ген *Rpt 5* картирован у эфиопского образца ячменя CI 9819 (Manninen et al., 2006).

Группа австралийских ученых определила 10 сцепленных маркеров (*Bmag0807, Bmag0173, HVM74, Bmag0870, HVM65, Bmag0496, Bmag 0344a, EBmac0853, EBmac0806* и *EBmac0874*), которые можно использовать при селекции на устойчивость к нет-типу (net-spot) сетчатой пятнистости. У маркеров

Bmag0173 и *HVM74* выявлена достоверная связь с устойчивостью (Gupta et al., 2011). Поэтому эти микросателлитные маркеры, тесно сцепленные с геном *Rpt5*, эффективно используются в маркер-вспомогательной селекции устойчивых сортов в Австралии и Канаде.

Разрабатывать ДНК-маркеры, ассоциированные *Cochliobolus sativus* – возбудителем темно-бурой пятнистости, начали с 1996 года. Первые ДНК-маркеры принадлежали классу RAPD (Kutcher et al., 1996). Однако они трудно применимы, так как, обладая средним уровнем полиморфизма, нет возможности автоматизации процесса анализа. Данных по диагностическим SSR- или SNP-маркерам, ассоциированным с устойчивостью к темно-бурой пятнистости, до начала текущего исследования не обнаружено.

В настоящее время локусы устойчивости к патогену *C. sativus* выявлены на всех хромосомах ячменя (Steffenson et al., 1996; Bilgic et al., 2005; Bilgic et al., 2006; Bovill et al., 2010; Grewal et al., 2012; Afanasenko et al., 2015). Было картировано три гена, ассоциированных с устойчивостью к патогену. Ранние исследования на дигаплоидной популяции, полученной от скрещивания шестирядных сортов Steptoe и Morex, показали, что ювенильная устойчивость контролируется единственным геном *Rcs5* на хромосоме 7H (Steffenson et al., 1996). На хромосоме 1H выявлен ген *Rcs6* (Bilgic et al., 2006; Leng et al., 2018). Y. Leng с соавторами (2018) предположили, что *Rcs5* и *Scs6* расположены в одном и том же локусе, и что *Scs6* является доминантным аллелем. Устойчивость взрослых растений контролируется двумя локусами: первый имеет главный эффект на хромосоме 1H, второй, с минорным эффектом – на хромосоме 7H.

Дальнейшими исследованиями на других дигаплоидных популяциях (Bilgic et al., 2005) обнаружено еще 3 QTL, ответственных за устойчивость к темно-бурой пятнистости: один на коротком плече хромосомы 3H, второй – на длинном плече хромосомы 3H, третий – рядом с *Rcs5* на хромосоме 7H. В работе, выполненной с помощью GWAS, идентифицирован локус на коротком плече хромосомы 6H, ассоциированный с устойчивостью к *C. sativus* (Wang et al., 2017). Позже он был обозначен как *Rbs7* (Wang et al., 2019).

Выявленные молекулярные маркеры и гены устойчивости к *P. teres* и *C. sativus* могут быть использованы в селекционных программах ФАНЦ Северо-Востока для повышения устойчивости сортов ячменя к сетчатой и темно-бурой пятнистостям.

Глава 4
КЛАССИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ СЕЛЕКЦИИ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К БОЛЕЗНЯМ В ФАНЦ СЕВЕРО-ВОСТОКА

Известно (Афанасенко и др., 2000), что для создания устойчивых к болезням сортов необходим ряд условий:

- знание видового и расового состава местных и географически отдаленных популяций возбудителей;
- наличие надежных источников и доноров;
- рациональное использование имеющихся генов в селекционной программе.

Создание сортов и гибридов с генетически однородной устойчивостью обусловливает их биотическую и биологическую уязвимость в экстремальных и эпифитотийных условиях вегетации. Поэтому селекция, особенно на фитоиммунитет, должна базироваться на широком генетическом разнообразии исходного материала с использованием не только выдающихся доноров расоспецифической устойчивости, но и эффективных источников неспецифической.

В настоящее время в НИУ РФ применяются различные методы селекции ярового ячменя: отбор, гибридизация, индуцированный (экспериментальный) мутагенез и их сочетания, биотехнологические и молекулярно-генетические методы. В ФАНЦ Северо-Востока классическая селекция ячменя на биотическую устойчивость осуществляется по следующей схеме (Шешегова, 2010):

- скрининг генофонда культуры в полевых и лабораторных условиях на жестких инфекционных фонах (искусственных и естественных) местных популяций возбудителей и выделение эффективных источников;
- анализ наследования и идентификация генов устойчивости;
- использование источников и доноров в гибридизации с высокоурожайными сортами и селекционными линиями;
- отбор резистентных элитных растений с учетом их продуктивности из гибридных популяций, начиная с F_3 или первого – второго беккросса, в т. ч. на провокационно-инфекционных фонах;
- изучение выделенных и созданных источников по комплексу признаков в селекционном процессе.

4.1. Видовая структура местных популяций возбудителей болезней

Ранее проведенными исследованиями совместно со специалистами ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии» (ВНИИФ) осуществлен мониторинг видового состава возбудителей корневых гнилей зерновых культур в Кировской области (Киселева, Коваленко, 1998;

Родина и др., 2002). В патогенном комплексе корневых гнилей ячменя выявлено до 13 видов с доминированием *Bipolaris sorokiniana* и постоянным присутствием некоторых видов *Fusarium* spp. *(F. culmorum и F. oxysporum).* Поэтому в настоящее время при создании инфекционного фона в полевых и лабораторных экспериментах используется «искусственная» популяция, составленная из патогенных штаммов этих видов (Шешегова, 2015; Шешегова и др., 2017).

Среди возбудителей головневых болезней ячменя наибольшее распространение в Волго-Вятском регионе имеет гриб *U. nuda,* вызывающий пыльную головню и поражающий до 80 % апробированных посевов. Твердые виды головни (черная – *U. nigra,* каменная – *U. hordei*) не имеют большого распространения и в отдельные годы поражают до 25,3 % обследованных площадей (Родина, 2006). Поэтому в последние 15 лет селекционная работа в ФАНЦ Северо-Востока ориентирована на создание сортов ярового ячменя, устойчивых к пыльной головне. При этом в селекцию чаще всего вовлекаются наиболее эффективные в регионе гены *Run 2, Run 3, Run 6, Run 8*.

4.2. Методики создания искусственных инфекционных фонов и учета болезней

Уровень устойчивости к стрессу является генетически контролируемым и наследуемым фактором. Однако проявляется он только под влиянием экстремальных условий биотической и абиотической природы. Поэтому необходимым условием для диагностики устойчивости сорта к болезням является наличие стрессовой нагрузки (Гончарова, 2011). В селекции на устойчивость к болезням главным фактором является контакт растений с возбудителями. Эти условия наиболее полно обеспечиваются при создании искусственных фонов. При этом важным является методически правильное моделирование фитопатоценозов, основанное на соблюдении следующих принципов:

- выравненность фона во времени и пространстве;
- обеспечение оптимальных абиотических факторов для патогенеза;
- соблюдение инфекционной нагрузки;
- использование качественного инокулюма.

Иммунологическая оценка ячменя в ФАНЦ Северо-Востока проводится в условиях жестких инфекционно-провокационных фонов (естественных или искусственных). При моделировании фитопатоценозов используются доступные общеизвестные методики. В некоторые методики вносятся наши модификации, позволяющие снизить расход инокулюма, гарантировать заражение, расширить объемы иммунологических работ и др. При необходимости моделируются совмещенные инфекционные фоны. Например, внесение в почву твердого инокулюма (инфицированная зерносмесь *B. sorokiniana)* позволяет оценивать генофонд

по устойчивости к корневым гнилям и темно-бурой пятнистости листьев. При посеве в почву предварительно зараженных семян *U. nuda, D. graminea, D. teres* с инфекцией *B. sorokiniana* появляется возможность оценки на устойчивость к корневым гнилям и одной из болезней: пыльной головне, полосатой или сетчатой пятнистости. Однако следует учитывать, что без обеспечения провокационных для развития фитопатогенов условий искусственная инокуляция может оказаться малоэффективной. Эти условия можно обеспечить в том числе и с помощью элементов агротехнологий: одностороннего удобрения, избыточного полива, изменения глубины заделки семян, сроков и норм посева. Например, использование высоких доз азотных удобрений провоцирует развитие ржавчины, мучнистой росы, сетчатой пятнистости, а одностороннее внесение азота в нитратной форме способствует размножению возбудителя гельминтоспориозной корневой гнили (Бразеле, 2001; Ториков и др., 2007; Чулкина и др., 2009). В исследованиях Н. А. Родиной и З.Г. Ефремовой (1986) провокационные условия обеспечивали участки с обилием пораженных растений. По данным авторов, наличие в травостое 10 % растений, пораженных полосатой пятнистостью, приводило к зараженности до 80 % формирующихся семян восприимчивых сортов ячменя.

Полевой инфекционный питомник размещен на специальном вне севооборотном участке, изолированном от селекционных и производственных посевов лесопосадками и строениями (рис. 6). Это ограничивает занос и распространение аэрогенной инфекции.

Рисунок 6. **Внешний вид полевого инфекционного питомника**

Размер делянок определяется количеством имеющихся семян и поставленными задачами. На участке не применяются фунгициды из-за возможного отрицательного действия на патогены, но допустима обработка гербицидами.

4.2.1. Инфекционный фон на корневые гнили

При создании искусственного инфекционного фона используются патогенные штаммы грибов *B. sorokiniana* + *F. oxysporum* + *F. culmorum* в примерном процентном отношении видов – 70 : 20 : 10. В полевых исследованиях применяется инфицированная зерносмесь, которая вносится одновременно с посевом семян из расчета 200-250 г/м^2 (Григорьев, 1976). Провокационные условия обеспечиваются более глубокой (на 2-4 см) заделкой семян и усилением естественной инфекционной нагрузки за счет повторного посева зерновой культуры в течение 2-3-х лет. В лабораторных экспериментах инокулюмом является водно-споровая суспензия микроорганизмов с концентрацией 10^5 кон/мл (Бенкен, Хрустовская, 1977).

Учеты распространения и развития корневых гнилей проводятся трижды за вегетационный период и приурочиваются к фазам «кущение», «колошение» и полная спелость». Это позволяет оценивать генотипы по характеру взаимодействия «хозяин-патоген» и выявлять иммунологически ценные для селекции, характеризующиеся:

- ювенильной устойчивостью (высокая устойчивость в фазу «кущение», а затем нарастание болезни);
- возрастной устойчивостью (стабилизация в развитии болезни или постепенное затухание патологического процесса);
- устойчивостью во все фазы онтогенеза;
- толерантностью (выносливостью).

Однако, учитывая длительность патологического процесса, окончательную оценку генотипам по устойчивости к корневым гнилям определяют в фазу «полная спелость» зерна. При учете болезни анализируется не менее 20 растений в 3-х повторениях на 2 фонах: инфекционный и контроль (без инфекции). Оценка поражения проводится по каждому стеблю в соответствии со шкалой М. Ф. Григорьева (1976):

0 баллов – отсутствие признаков болезни;

1 балл – слабое побурение основания стебля подземного междоузлия и узловых корней, заметны явно выраженные некрозы на наружных тканях подземных междоузлий;

2 балла – побурение основания стебля с некрозами, проникающими во внутренние ткани, угнетение развития корней и продуктивных стеблей, низкорослость растений;

3 балла – сильное побурение основания стебля и отмирание тканей, отсутствие продуктивных стеблей, щуплость колоса или гибель растения.

В лабораторных опытах повторность 4-кратная. При учете степени поражения используют шкалу ВИЗР:

0 баллов – здоровые части и органы;

1 балл – желтоватая окраска пораженных частей и органов;

2 балла – изменение окраски от желтоватой до буроватой, единичные бурые полосы и пятна;

3 балла – сильное побурение, частичная трухлявость;

4 балла – отмершие части тканей и органов.

Далее для каждого сорта определяют поражение (распространение), отражающее процентное содержание растений с симптомами болезни в выборке (*P,* %):

$$P = \frac{N}{n} \text{ x } 100\ \%,$$

где *N* – количество учтенных стеблей, *n* – количество пораженных стеблей и качественный критерий патогенеза – развитие болезни (степень поражения) (*Rb*, %):

$$Rb = \frac{\sum(a \text{ x б })}{\text{к x } 4} \text{ x } 100\ \%,$$

где $\sum$ (*а х б*) – сумма произведения числа пораженных стеблей на соответствующий балл поражения, к – общее количество стеблей в выборке,
4 – максимальный балл шкалы.

По уровню развития болезни образцы делят на:

- иммунные (нет симптомов поражения);
- высокоустойчивые (развитие до 10 %);
- умеренно устойчивые (до 15 %);
- среднеустойчивые (до 25 %);
- слабоустойчивые (более 25 %).

Для выявления толерантных генотипов сравнивают их урожайность в контрольных и инфекционных вариантах, которая не должна более чем на 10 % отличаться на различных фонах изучения.

Поскольку *B. sorokiniana*, кроме поражения корневой системы растений, вызывает сопутствующее заболевание – темно-бурую пятнистость листьев, то анализируемый генофонд ячменя дополнительно оценивается по устойчивости и к этой болезни в период ее максимального проявления.

4.2.2. Инфекционный фон на полосатую, сетчатую и темно-бурую пятнистости

Существуют различные методы заражения ячменя возбудителями гельминтоспориозных пятнистостей: через почву, цветковая инфекция и заражение семян (Гешеле, 1971; Родина, Ефремова, 1986; Афанасенко, 1987). В наших исследованиях инфекционный фон на полосатую и сетчатую пятнистость создается инокуляцией цветков в фазу зеленых пыльников водно-споровой суспензией конидий *D. graminea* и *D. teres* (Родина, Ефремова, 1986). Инокулюм готовится путем смыва стерильной водой с чистых культур патогенных штаммов. При отсутствии культуры можно использовать споры, выделенные с листьев восприимчивых сортов. Для этого сильно пораженные листья тщательно промываются проточной водой, закладываются в растильни на влажную фильтровальную бумагу, накрываются полиэтиленовой пленкой и инкубируются в течение 2-3-х суток при комнатной температуре на рассеянном солнечном свету (рис. 7). Появившийся обильный мицелий с конидиальным спороношением снимается лопаточкой в стерильную воду. При прямом микрокопировании с помощью камеры Горяева устанавливается необходимая инфекционная нагрузка – $5x10^5$ кон/мл.

Рисунок 7. **Выделения конидий *D. graminea* с восприимчивых сортов ячменя**

Полученной суспензией инокулируется не менее 10 колосьев каждого сорта (рис. 8), после чего их отмечают флажками (рис. 9). При работе в сухую жаркую погоду их следует поместить на 1-2 дня в пергаментные изоляторы с целью сохранения необходимого для прорастания конидий уровня влажности.

Рисунок 8. **Инокуляция цветков колоса ячменя суспензией спор *D. graminea* или *D. teres***

Рисунок 9. **Растения ячменя после инокуляции отмечены флажками**

При созревании колосья срезают, а инокулированные семена на следующий год высевают в питомник изучения. Данный метод соответствует естественному заражению растений сетчатой и полосатой пятнистостью и позволяет получить объективную норму реакции генотипа. Однако у него есть недостатки, связанные с невозможностью иммунологической оценки в год инокуляции, трудоемкостью и низкой производительностью, травмированием цветка и щуплостью зерна.

Другим достаточно эффективным и высокопроизводительным способом является опрыскивание посевов суспензией конидий *D. teres* и *B. sorokiniana* из расчета 50 мл/м^2. Заражение растений проводится при появлении флаг-листа, когда в естественных условиях начинается интенсивное нарастание болезни (рис. 10). После обработки делянки укрывают на сутки полиэтиленовой пленкой, чтобы сохранить влажность, необходимую для прорастания конидий.

Рисунок 10. **Влажная камера после опрыскивания растений ячменя суспензией *D. teres***

В наших исследованиях (Ковригина, Шешегова, 2014) получены свидетельства об одинаковой иммунологической характеристике одних и тех же генотипов ячменя при разных способах инокуляции, что свидетельствует о возможности применения данного метода заражения при поиске и создании источников устойчивости к сетчатой и темно-бурой пятнистости.

Для оценки на ювенильную устойчивость к темно-бурой и сетчатой пятнистости применяется инокуляция отсеченных листьев *B. sorokiniana* или *D. teres* в лабораторных условиях (рис. 11 и 12).

Рисунок 11. **Закладка отсеченных и инокулированных *B. sorokiniana* или *D. teres* листьев ячменя в растильни с 0,04%-ным раствором бензимидазола**

Учет пятнистостей проводится по признакам: «степень поражения» (развитие болезни), отражающее процентное соотношение здоровой и пораженной поверхности листьев; «тип реакции». Выборка для анализа – не менее 20 растений в 3-х повторениях. Иммунологическая характеристика сорта дается на основании шкалы О.С. Петровой и О.С. Афанасенко (2003):

0 баллов – симптомов проявления болезней нет (иммунитет);

1 балл – поражено до 10 % листового аппарата (высокая устойчивость);

2 балла – поражено до 25 % (средняя устойчивость);

3 балла – поражено до 50 % (восприимчивость);

4 балла – поражение свыше 50 % (высокая восприимчивость).

Тип реакции генотипа к *D. teres* и *B. sorokiniana* – по 5-балльной шкале:

1 балл – иммунный; пятна отсутствуют;

2 балла – высокоустойчивый; пятна мелкие (до 3 мм в длину и 1,5 мм в ширину), без хлороза;

3 балла – среднеустойчивый; пятна мелкие (5-10 х 1,5-3 мм), с хлорозом или без него;

4 балла – восприимчивый; типичные пятна с хлоротичным окаймлением;

5 баллов – высоковосприимчивый; пятнистость по всей поверхности листа, листья отмирают.

Рисунок 12. **Проявление пятнистостей на отсеченных листьях ячменя**

Для оценки полосатой пятнистости используется шкала Н. А. Родиной и З. Г. Ефремовой (1986):

0 баллов – нет симптомов болезни (иммунитет);

1 балл – на листьях больных побегов продольные коричневые полосы. Наряду с пораженными образуются здоровые продуктивные стебли, но с меньшей массой семян в колосе по сравнению с колосом здоровых растений. Соотношение продуктивных и погибших побегов – 2 : 1 (высокая устойчивость);

2 балла – признаки поражения те же. Наряду с погибшими, имеется один озерненный колос. Соотношение продуктивных и погибших стеблей 1 : 1 (средняя устойчивость);

3 балла – признаки поражения те же. Растение полностью погибает или образует колос, в котором не завязывается зерно (восприимчивость).

По устойчивости сорта делят на четыре группы: практически устойчивые – поражение до 5 %, слабовосприимчивые – до 10 %, средневосприимчивые – до 30 %, сильновосприимчивые – более 30 %.

Полосатая пятнистость учитывается однократно в период наибольшего ее развития, сетчатая и темно-бурая пятнистости – однократно или в динамике нарастания инфекции в сортовых биоценозах (3-4 раза за вегетацию). При изучении характера взаимодействия в патокомплексах *Hordeum sativum – D. teres* и *Hordeum sativum – B. sorokiniana* используется формула расчета площади под кривой развития болезни – ПКРБ (D.F. Johnson, R.D. Wilcoxson, 1981):

$$S = ½ (X_1 + X_2) \times (t_2 - t_1) + \ldots (X_{n-1} + X_n) \times (t_n + t_{n-1}),$$

где X_1 – интенсивность развития болезни в первый учет, %;

X_2 – интенсивность развития болезни во второй учет, %;

X_n – интенсивность развития болезни в последний учет, %;

$t_2 - t_1$ – количество дней между первым и вторым учетом;

$t_n + t_{n-1}$ – количество дней между последним и предпоследним учетом.

Чем меньше значение ПКРБ, тем медленнее идет нарастание инфекции в биоценозе конкретного сорта. Однако абсолютные значения ПКРБ варьируют по годам из-за нестабильности климатических и инфекционных факторов, и сезонные результаты ПКРБ бывают трудно сопоставимы. В этой связи более объективно оценивать сорта по индексу устойчивости (ИУ), согласно которому генотипы делятся на 4 группы: 0,10-0,35 – высокоустойчивые; 0,36-0,65 – среднеустойчивые; 0,66-0,80 – слабоустойчивые; более 0,81 – восприимчивые (Макаров и др., 2012).

4.2.3. Инфекционный фон на пыльную и твердую головню

Способов искусственного заражения головневыми болезнями разработано достаточно много. В наших исследованиях используется заражение цветков суспензией спор патогенов с помощью шприца по методике ВИР (Кривченко и др., 1987). Следует отметить, что основную опасность в Волго-Вятском регионе представляет пыльная головня. Виды твердой головни (каменная – *U. horgei*, черная – *U. nigra*) не имеют большого развития и экономического значения. Телиоспоры *U. nuda* собираются с восприимчивых сортов в фазу «колошение», когда споровый материал максимально чист от сопутствующей микрофлоры. Пораженные колосья раскладывают на бумаге и просушивают. Перед инокуляцией телиоспоры стряхивают, и биомассу просеивают через мелкое сито. Для заражения используется наиболее жизнеспособный инфекционный биоматериал (всхожесть не менее 70 %).

Пыльной головней заражают средние, более мощные цветки колоса. Не заражают в верхней и нижней части колоса по две тройки колосков у шестирядного ячменя или по два развивающихся колоска у двурядного. Цветки чувствительны к механическим повреждениям, и завязи их легко усыхают, поэтому заражение колосьев нужно проводить очень аккуратно. Если ость и пленка не повреждены, то заражение цветка можно считать удачным.

На следующий год инокулированные семена высевают в 2-3-х повторениях. О качестве заражения, можно судить по индикаторному (наиболее восприимчивому) сорту, который должен быть поражен не менее 80 %. Учет поражения проводится по растениям и стеблям в соответствии со шкалой ВИР (Кривченко и др., 1987):

0 баллов – иммунитет;

1 балл – поражение до 5 % (практическая устойчивость);

2 балла – до 25 % (слабая восприимчивость);

3 балла – до 50 % (средняя восприимчивость);

4 балла – более 50 % (высокая восприимчивость).

4.3. Наследование устойчивости ячменя к некоторым болезням

Определение характера наследования признака устойчивости, числа и видов генов позволяет планировать объемы и прогнозировать результаты скрещиваний, правильно подбирать исходный материал и включать в селекционную работу наиболее эффективные гены. Совмещение в рекомбинантных генотипах

различных защитных механизмов, унаследованных от родителей, обеспечивает трансгрессию по устойчивости. Кроме того, повышение генетической вариабельности в гибридных популяциях является благоприятным для отборов иммунологически ценных форм.

В наших исследованиях выявлено, что гибриды ячменя (F_1), полученные от скрещивания сортов, контрастных по устойчивости к болезням, в 1,5-2,5 раза меньше, чем родительские формы поражались корневыми гнилями как в фазу «всходы», так и «полная спелость» зерна. Эта тенденция сохранялась и по отношению к темно-бурой пятнистости. При анализе наследования устойчивости выявлено преобладание признака при Sha = 1,6-9,6 (табл. 11). В отношении корневых гнилей обнаружен доминантный и промежуточный тип наследования. Полное доминирование к двум болезням, обусловленным паразитизмом одного и того же патогена *B. sorokiniana,* обнаружено у гибридов: 45-13 x Sultan, 45-13 x NCL 95098, 288-12 x NCL 95098, Форвард x 52-12.

На примере гибридов (45-13 x Sultan, Sultan x 45-13, Форвард x 288-12 и 288-12 x Форвард) обнаружен реципрокный эффект и влияние цитоплазмы на проявление устойчивости ячменя к корневым гнилям и темно-бурой пятнистости. Восприимчивость гибридов снижается при использовании в скрещиваниях более устойчивого материнского сорта, а влияние отцовских компонентов на устойчивость гибридных семян материнских растений значительно слабее. Аналогичные результаты получены и в Беларуси при анализе контроля ячменя к сетчатой пятнистости (Сущевич, 2021).

Таблица 11

Наследование устойчивости гибридов (F_1) ячменя к гельминтоспориозным болезням

Гибрид	Корневые гнили		Темно-бурая пятнистость
	показатель доминирования Sha в фазу		
	всходы	восковая спелость	всходы
45-13 x Sultan	13,5	5,0	6,2
Sultan x 45-13	0,9	6,7	3,4
Форвард x 288-12	3,3	0,4	2,5
288-12 x Форвард	0,0	1,4	9,6
45-13 x NCL 95098	10,3	3,5	6,1
288-12 x NCL 95098	4,4	2,5	1,6
Форвард x 52-12	35,4	4,7	4,5

Ранее уже сообщалось (Родина, 2006) о наличии реципрокного эффекта на устойчивость к головневым болезням, селекция к которым в ФАНЦ Северо-Востока ведется путем индивидуальных отборов, начиная с первого и второго беккроссов. В серии беккроссов происходит почти полное поглощение материнской наследственности отцовской. Однако в случае некоторых болезней (например, сетчатая пятнистость) после каждого беккроссного скрещивания происходит экспрессия признака устойчивости, что связано с присутствием в генотипе генов, специфичных по отношению к определенным изолятам, локализованным в различных хромосомах (Афанасенко и др., 1999).

4.4. Поиск и создание источников устойчивости к болезням

Успех селекции на фитоиммунитет во многом связан с выбором типа устойчивости и методологии исследований по защите от конкретной болезни. Для корневых гнилей и большинства пятнистостей листьев, устойчивость к которым носит в основном полигенный и аддитивный характер, следует ориентироваться на создание форм с неспецифической (горизонтальной, полевой, частичной) устойчивостью. В селекции на устойчивость к видам ржавчины и головни возможно сочетание расоспецифической и неспецифической устойчивости. Резистентность к головневым и ржавчинным грибам контролируется небольшим числом генов и, как правило, хорошо передается по наследству. В данном случае приемлемо беккроссирование, как основной метод в селекции на фитоиммунитет к облигатным паразитам. Другие виды гибридизации приемлемы при создании комплексно устойчивых сортов. Что касается толерантности (выносливости) к болезням, то специалисты обращают внимание, что «эксплуатация» этого типа устойчивости в коммерческих сортах представляет уже определённую опасность, так как это свойство не препятствует росту численности патогенов и не снижает фитосанитарной напряженности в агроландшафтах и агроценозах (Дьяков, 2003). В целом селекционные программы должны быть ориентированы на «разумное» сочетание в современных сортах разных типов устойчивости к биотическим стрессам с экономически оправданным уровнем урожайности.

За период с 2014 по 2022 год. в полевых и лабораторных условиях изучено более 200 перспективных линий селекции ФАНЦ Северо-Востока и около 700 образцов пленчатого и голозерного ярового ячменя из генетической коллекции ВИР, отличающихся эколого-географическим происхождением и относящихся к различным регионам РФ, стран ЕС, Азии, Америки, Африки и Австралии.

В процессе иммунологической оценки коллекционного генофонда в провокационных для возбудителей условиях, при которых степень поражения

гельминтоспориозными пятнистостями индикаторных сортов превышала 50 %, выявлена широкая изменчивость образцов по болезнеустойчивости (рис. 13). В изученном генофонде доминировали иммунные к пыльной головне и полосатой пятнистости генотипы, на долю которых приходилось 70,5 и 50,2 % образцов, устойчивые – к сетчатой пятнистости (50,4 %) и среднеустойчивые – к темно-бурой пятнистости (69,2 %). В селекционной практике до сих пор остаются востребованными толерантные к инфекции генотипы, пораженность которых не приводит к значительному снижению продуктивности растений и урожайности. Это свойство выявлено у 12,3 % изученных образцов ячменя.

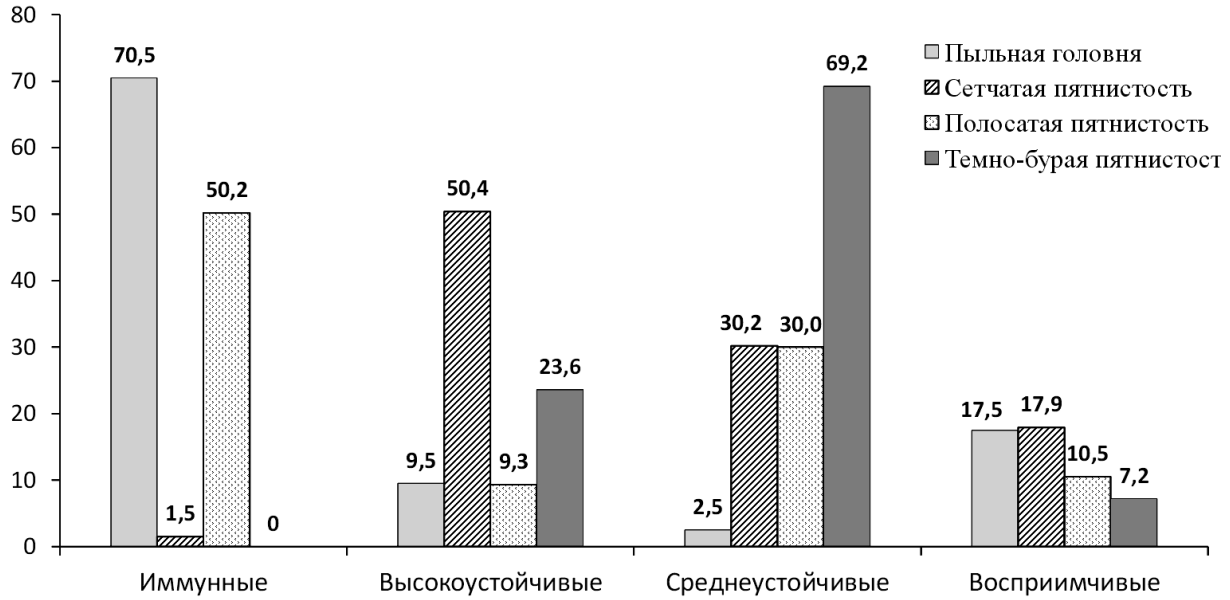

Рисунок 13. **Доля образцов ярового ячменя с различной устойчивостью к основным болезням в изученной коллекции ВИР, % (2014-2022 гг.)**

Основная часть иммунологически-ценных источников среди пленчатых и голозерных образцов коллекции ВИР представлена в таблице 12. Данные образцы являются базовой основой для создания новых устойчивых сортов ярового ячменя.

Новые линии ячменя селекции ФАНЦ Северо-Востока изучаются при искусственной инокуляции возбудителями гельминтоспориозных болезней и пыльной головни (табл. 13). В изученном материале преобладали линии, среднеустойчивые к сетчатой пятнистости (50,0 %) и корневым гнилям (72,0 %). Доля высокоустойчивых к полосатой пятнистости составляла 35,0 %, сетчатой и темно-бурой – по 10,5 %. По отношению к корневым гнилям высокоустойчивые линии отсутствовали, а доля умеренно устойчивых составила 12,0 %. Практической устойчивостью к пыльной головне характеризовались лишь 2,0 % селекционных линий.

Таблица 12

Перспективные для селекции на фитоиммунитет к грибным болезням коллекционные образцы ярового ячменя (2014-2022 гг.)

Признак	Источник
Устойчивость к пыльной головне	Петр, Джин, Лель, Мураш, Эколог (Россия); Sultan (Нидерланды); Filippa (Швеция); Orthega, Issota (Германия); Куфаль, Адам, Райдер (Беларусь); Местный к-8430 (Эфиопия)
Устойчивость к полосатой пятнистости	Дина, Эколог, Форвард, Форсаж, Лель, Тандем, Медикум 336, Хаджибей, Горинский, Первоцелинник, Безенчукский 3, Белгородский 100, Казьминский, Щедрый, Золотник (Россия); Гонар, Липень, Сябра (Беларусь); Джерело, Феникс, Гетьман, Бадьорый, Галатея, Пивденный, Юкатан (Украина); Илек 34 (Казахстан); Jdumeja, Druvis, Kristaps, Irbe (Латвия); Korona Lashego, Rodos (Польша); Orthega, Margret, Xanadu, Калькюль, Ragerast, Sissy, Mauritia (Германия); Filippa, Patty, Patricia (Швеция); Crusades, Cooper, Brock (Англия); Buck, Codac (Канада); Viivi (Дания); Mentor, Эвергрин (Финляндия); Mie (Китай); местный (к-2929 и к-2930) (Эстония); местный (к-5983) (Афганистан); местный (к-3506), Bear (США); Makbo (Австралия)
Урожайность и устойчивость к полосатой пятнистости	Золотник (Россия); Сябра (Беларусь); Patty (Франция); Druvis (Латвия); Rodos (Польша)
Устойчивость к сетчатой пятнистости	Дина, Форвард, Бионик, Форсаж, Витрум, Ратник, Рахат, Вереск, Русь, Беркут, Вулкан, Заветный, Баган, Зевс, Княжич, Велес, Наран, Убаган, Партнёр, Тарский 3, Нутанс 401, Прикумский 20, Белгородский 100, Безенчукский 3, Челябинский 95, Сибиряк, Салаир, Л-102/17, Л-103/16, Л-168/16, Л-209/11, Л-223/15, Буян, Оленек (Россия); Гонар, Дзівосны, Белорусский 76, Сябра, Хаго, Магутны (Беларусь); Джерело, Феникс, Галатея, Адапт, Галактик, Гетьман, Бадьорый, Якубинец (Украина); Илек 34, Пастбищный (к-30597), Медикум 11 (к-31138), Медикум 125, Медикум 176 (Казахстан); Korona Laschego (Польша); Orthega, Margret, Xanadu, Калькюль, Danuta, Саншайн, Lawina, Princesse (Германия); Filippa (Швеция); Botnia; 752A (Финляндия); Buck, Codac, Leger, Kinkora, Paragon (Канада), Lacombe (Швейцария); Bear, C.I. 13664-Un8,Tamalpais, Chevron C.I.1111 (Эфиопия); Jet, местный (к-3282) (США); Karan 201, Local (Индия); местный (к-2929, к-2930) (Китай); Jdumeja, Kristaps (Латвия); Radegast, Respect (Чехия); Patricia, Melton (Франция); Crusades, Cooper (Англия); NCL 95098 (Аргентина); местный (к-5983) (Афганистан); Makbo, Tallon (Австралия)
Урожайность и устойчивость к сетчатой пятнистости	Вереск, Русь (Россия); Галактик, Якубинец (Украина)
Комплексная устойчивость к полосатой и сетчатой пятнистостям	Дина, Форвард, Медикум 336 (Россия); Джерело, Гетьман, Бадьорый (Украина); Гонар (Беларусь); Илек 34 (Казахстан); Korona Laschego (Польша); Orthega, Margret, Xanadu, Калькюль (Германия); Filippa (Швеция); Crusades (Англия); Buck, Codac (Канада); Makbo (Австралия).
Устойчивость к темно-бурой пятнистости	Форвард, Сюрприз, Симфония, Гармония (Россия); Нур, Заветный, Медикум 336, Натали, Буян, Салаир (Украина); Гонар (Беларусь); Медикум 11, Медикум 125, Медикум 176 (Казахстан); Rodos (Польша); Danuta, Margret, Xanadu, Калькюль (Германия); AC Alberte (Канада); Cooper (Англия); Delphine, Patricia (Франция); Jelen (Югославия); Haxby (США); Makbo (Австралия)., NCL 95098 (Аргентина); CI 11084 (Перу); местный (к-2930) (Китай)
Комплекс признаков продуктивности растений и устойчивости к отдельным пятнистостям листьев	Зевс, Заветный, Натали (Россия); Илек 34 (Казахстан); Rodos, Korona Laschego (Польша); Filippa (Швеция); Codac (Канада).

Таблица 13

Источники устойчивости (7-9 баллов) к болезням среди сортов ячменя селекции ФАНЦ Северо-Востока (инфекционно-провокационные фоны)

Болезнь	2014-2018 гг.	2019-2022 гг.
Корневые гнили	Витрум, 66-08, 94-13, 33-11, 52-12, 121-13	7-16, 50-16, 114-16, 151-16, 3-17, 40-17, 35-18, 279-18, 223-18
Полосатая пятнистость	Дина, Эколог, Лель, Тандем, Добряк, Форвард, Боярин, 217-08, 53-08, 121-08, 33-11, 52-12, 94-13	Баско, 93-16, 50-16, 207-16, 47-17, 35-18, 230-18, 279-18
Сетчатая пятнистость	Дина, Форвард, Форсаж, 217-08, Витрум, 150-08, 121-13, 126-13, 93-13, 57-13	Баско, 217-14, 103-15, 93-16, 133-16, 50-16, 1-17, 47-17, 223-18
Темно-бурая пятнистость	Добряк, Форвард, 66-08, 341-08, 33-11, 121-13, 126-13, 45-13, 93-13, 94-13	Баско,103-15, 15-16, 39-17, 65-17, 279-18
Пыльная головня	Эколог, Добряк, 52-12, 168-12	Баско, 84-15 229-16, 232-16, 93-16, 133-16

Кроме поиска иммунологически ценных форм среди разного генофондного материала, осуществляется и создание источников путем отбора устойчивых генотипов на искусственных инфекционных фонах с последующим изучением их по комплексу селекционных признаков. При этом критериями отбора являются следующие признаки и их уровень:

- корневые гнили: степень поражения корневой системы растений в фазу «полная спелость» – не выше 1 балла;
- пыльная головня: поражение стеблей и растений – 0 баллов;
- полосатая пятнистость: поражение растений – 0 баллов;
- сетчатая и темно-бурая пятнистость: степень поражения листьев – 0-1 балл.

Среди селекционных признаков учитываются:

- продуктивная кустистость – не менее 3-х колосьев;
- озерненность колоса – 100 %;
- продуктивность растений – высокая (выше стандарта и исходной линии);
- устойчивость к полеганию – 9 баллов.

Следует также учитывать, что неспецифическая устойчивость к гельминтоспориозным пятнистостям может проявляться и в виде косвенных признаков: длительного латентного периода и медленного нарастания инфекции; быстрого прохождения уязвимого для патогена этапа органогенеза; уменьшения количества и размеров пятен на листьях; низкой споруляции зон поражения (Афанасенко и др., 1999). Она контролируется, как правило, аддитивным действием многих генов, которые по отдельности не имеют заметного фенотипического эффекта. Поэтому при оценке и отборе генотипов ячменя

с неспецифической устойчивостью следует обращать внимание не только на прямые иммунологические признаки (степень поражения, тип реакции), но и на косвенные.

У 120 коллекционных образцов провден сезонный мониторинг нарастания грибной инфекции. Выявлены 11 сортов (Форвард, Буян, Медикум 125, Медикум 176, Бадьорый, Bear, Калькюль, Orthega, Makbo, NCL 95098, местный (к-3506) из Индии), степень поражения которых темно-бурой пятнистостью выявлена на уровне 10,0-13,0 % при значениях показателей ПКРБ – 167-223 и ИУ – 0,18-0,25. Состояние признаков у индикаторного сорта Щедрый – 30,0 % и 904. Устойчивостью и медленным нарастанием сетчатой пятнистости характеризовались 18 сортов (Форвард, Буян, Оленек, Сябра, Юкатан, Rodos, Медикум 11, Медикум 125, Медикум 176, Калькюль, Makbo, Fitzroy, CI 11084, NCL 95098, местные формы: к-2929 и к-2930 – Китай, к-3506 – Индия, к-5983 – Афганистан) при степени поражения 6,0-10,0 %, значениях ПКРБ – 53-103, ИУ – 0,18-0,35. Состояние признаков у индикаторного сорта Sultan 22,0 % и 451.

Наиболее длительный латентный период темно-бурой пятнистости имел аргентинский сорт NCL 95098 (рис. 14). Симптомы болезни у него проявились лишь на седьмые сутки после поражения восприимчивого сорта Щедрый.

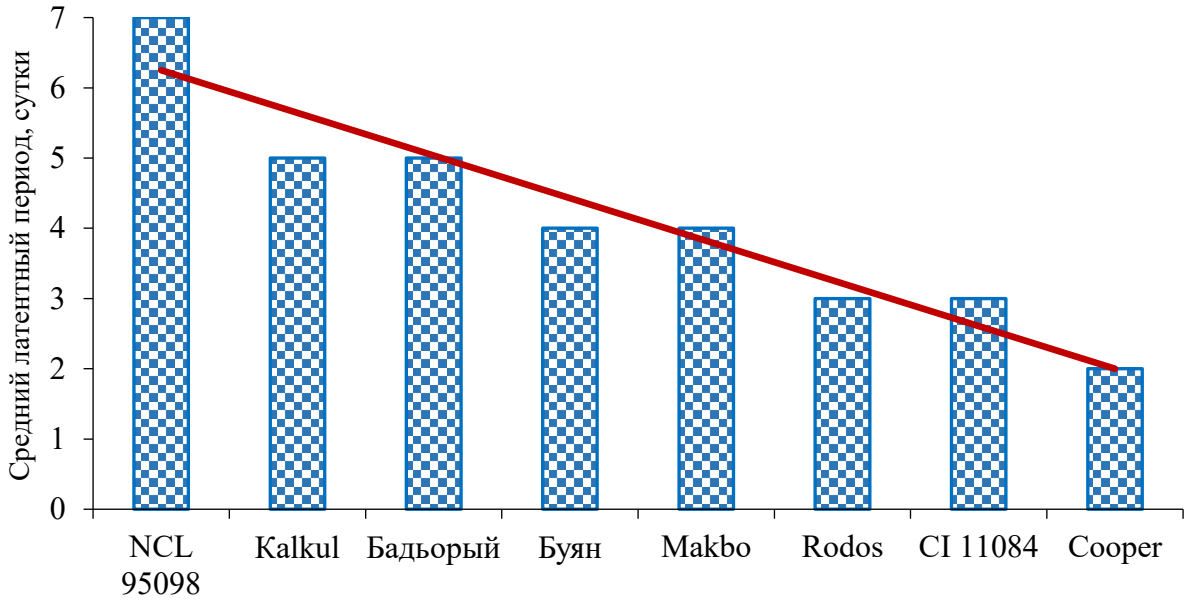

Рисунок 14. **Сорта ячменя с наиболее продолжительным латентным периодом темно-бурой пятнистости**

Продолжительным латентным периодом сетчатой пятнистости (в среднем 11-13 суток) характеризовались местные формы из Афганистана (к-5983) и Китая (к-2929) (рис. 15). Для сортов Бадьорый, Makbo, Rodos и Буян характерна равнозначная динамика развития обеих пятнистостей. Между продолжительностью

латентного периода и степенью поражения гельминтоспориозными пятнистостями установлена слабая (r = -0,33 – сетчатая) и средняя (r = -0,58 – темно-бурая) отрицательная зависимость, а уравнения регрессии имеют следующий вид:

$y = -0{,}3941x + 11{,}35$; $R^2 = 0{,}73$ (сетчатая) и

$y = -0{,}6071x + 6{,}8571$; $R^2 = 0{,}92$ (темно-бурая).

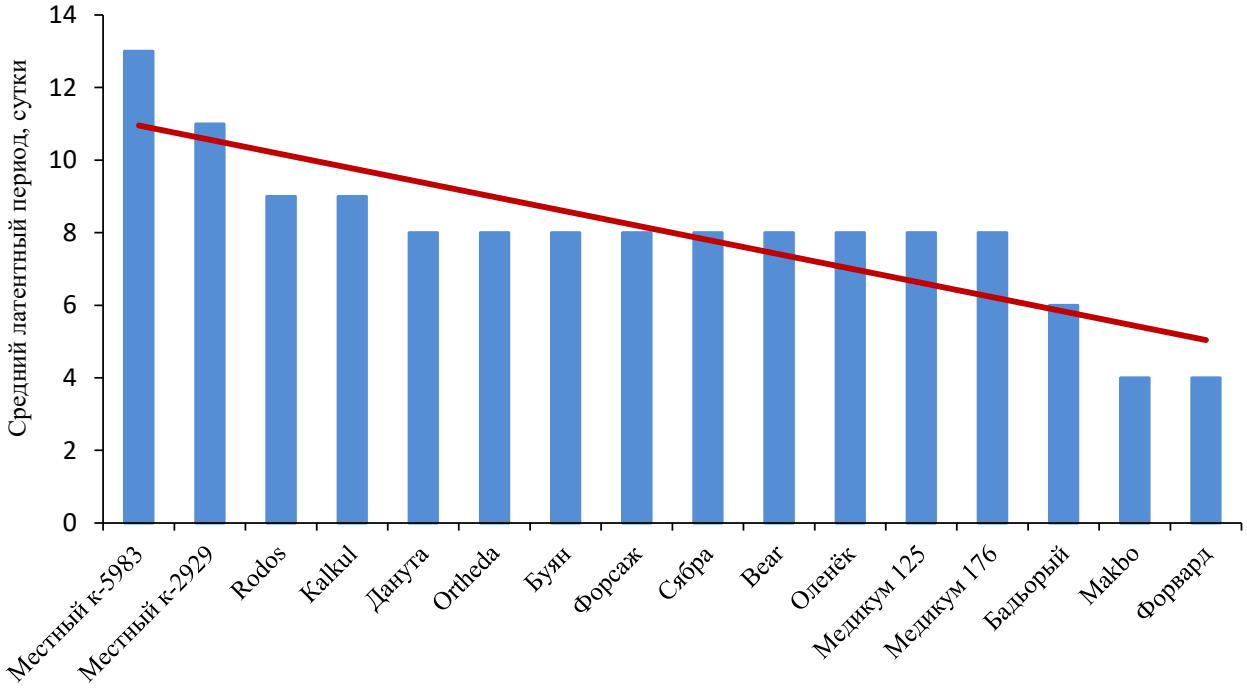

Рисунок 15. **Сорта ячменя с наиболее продолжительным латентным периодом сетчатой пятнистости**

4.5. Эффективность индивидуального отбора на инфекционных фонах

Известно, что отбор, применяемый в селекции, может быть эффективным, если имеется большой диапазон изменчивости признаков. Неспецифическая устойчивость, являющаяся количественным признаком, может изменяться не только под действием генотипа, но и под влиянием многих средовых факторов. Исследователи (Ковригина, Степанюк, 2013) отмечают, что широкая изменчивость признаков позволяет прогнозировать отбор устойчивых рекомбинантов и в более «старших» гибридах.

Мы проанализировали степень поражения у 10 линий, однократно отобранных на инфекционных фонах возбудителей, и сравнили иммунологическое состояние их с исходными формами. Для этого в период «цветение-молочная спелость» на растения, наименее поражаемые пятнистостями, навешивали сигнальные флажки и отбирали отдельно от восприимчивых; корневую систему растений просматривали при уборке урожая. Исследования показали, что

у 3 линий (341-08, 514-07, 105-09) происходило достоверное снижение развития корневых гнилей (табл. 14).

Отбор в относительно устойчивых к этой болезни линиях 66-08 и 86-08 оказался не эффективен: восприимчивость их существенно повышалась. У других отобранных линий изменчивость иммунологических признаков по отношению к исходной форме была на уровне ошибки. Что касается пятнистостей, то можно констатировать эффективность однократного отбора только в снижении полосатой пятнистости и отсутствие его для биоконтроля сетчатой.

Таблица 14

Проявление болезней на отборах ячменя (естественный фон, 2016 г.)

Линия	Степень поражения, %						Корневые гнили, %			
	полосатой пятнистостью		сетчатой пятнистостью		темно-бурой пятнистостью		поражение		развитие болезни	
	ИФ	О	ИФ	О	ИФ	О	ИФ	О	ИФ	О
98-07	1,5	1,0	3,0	2,0	16,0	13,0	45,8	51,4	19,7	20,0
66-08	4,2	1,0*	10,0	10,0	6,5	16,0*	22,6	41,0*	6,8	17,6*
86-08	6,0	3,2	4,0	4,0	16,0	10,0	12,5	23,5*	3,1	7,4*
341-08	10,0	6,0*	4,0	2,0	6,5	10,0	36,7	31,5	13,6	9,8*
514-07	1,5	1,2	2,0	6,8*	14,0	6,0*	36,7	17,6*	11,1	7,3*
462-08	8,0	6,8	6,0	10,0	14,5	8,0*	31,0	46,5	15,6	16,3
472-08	1,5	0,0	4,0	4,0	13,0	6,0*	26,2	34,2	9,0	11,2
515-08	1,5	1,0	2,0	3,0	8,0	6,0	41,8	27,6	13,6	12,1
105-09	1,5	1,8	4,0	3,0	10,0	16,0*	43,3	28,5*	15,4	9,5*
383-10	4,5	1,8*	4,0	2,0	11,0	6,0	19,6	33,3*	7,6	9,0
Среднее	4,0	2,4	4,3	4,7	11,6	9,7	31,6	33,5	11,6	12,0

Примечания: * – Достоверно при Р ≥ 095; О – отбор, ИФ – исходная форма.

Несмотря на схожий по таксономии спектр возбудителей корневых гнилей, темно-бурой, сетчатой и полосатой пятнистостей, не просматривается значимой генотипической взаимосвязи между восприимчивостью к гельминтоспориозным болезням, что предполагает разные генетические системы и механизмы устойчивости к ним ячменя. Лишь у линии 341-08 отмечали одновременное снижение поражения корневыми гнилями и полосатой пятнистостью, у линии 514-07 – корневыми гнилями и темно-бурой пятнистостью. Поэтому, повышая устойчивость к корневым гнилям, нельзя ожидать сопоставимого изменения и по отношению к пятнистостям. Программа селекционно-иммунологических исследований по повышению устойчивости ячменя к разным гельминтоспориозным болезням должна быть раздельной.

4.6. Использование источников устойчивости в селекции ячменя

За 2014-2022 гг. при изучении коллекционных и селекционных образцов ярового ячменя на инфекционно-провокационных фонах выявлено около 250 источников неспецифической устойчивости и отобрано более 400 элитных растений, резистентных к одной или двум видам грибных болезней. Как правило, в селекцию вовлекаются лишь те источники, которые имеют благоприятное сочетание устойчивости, продуктивности и других селекционно-ценных признаков. Лишь в некоторых случаях, когда источники обладают высокими донорскими признаками (иммунитет или практическая устойчивость), их используют в гибридизации с лучшими селекционными сортами (Щенникова и др., 2022). Особую ценность имеют источники с высокими показателями урожайности и адаптивности. В этой связи многие зарубежные образцы, богатые устойчивыми биотипами, не нашли достойного использования в селекционных исследованиях ФАНЦ Северо-Востока вследствие низкой урожайности в региональных условиях. Значительно шире в программах скрещиваний используются отечественные сорта и линии своей селекции (табл. 15).

Ежегодно в гибридизацию вовлекаются от 15 до 38 источников генетического разнообразия иммунологических и селекционных признаков и свойств, как базовой основы для создания новых сортов. Среди них наиболее востребованы сорта – Дина, Эколог, Новичок, Форвард, Дуэт, Зерноградский 770, Нур, Петр и другие. Ценность их состоит в широком использовании геноплазмы, которая присутствует во многих новых линиях ячменя селекции ФАНЦ Северо-Востока. Так, наиболее перспективными в качестве будущих сортов являются 6 селекционных линий (табл. 16).

Высокой урожайностью и устойчивостью к темно-бурой и полосатой пятнистостям листьев выделялась линия 279-18, в родословной которой присутствуют коллекционные образцы Sv 88764, Annabel и сорт Дуэт, представляющий собой удвоенный гаплоид, созданный в ФАНЦ Северо-Востока методом сельскохозяйственной биотехнологии с использованием ячменя *H. bulbosum*. Линия 279-18 характеризуется высокими показателями устойчивости к полеганию (4,8 балла, стандарт – 4,4 балла) и урожайности. За три года (2021-2023 гг.) превышение над стандартом Родник Прикамья составило 0,77 т/га при средней урожайности 4,77 т/га. Устойчивостью к темно-бурой пятнистости отличались линии 65-17 и 15-16, созданные с участием толерантных к болезни коллекционных образцов Thuringie, Памяти Чепелева и устойчивого к пыльной головне сорта Эколог. Новые селекционные линии высокоурожайны (4,98 и 4,73 т/га

соответственно; стандарт – 4,00 т/га) и устойчивы к полеганию (4,9 и 5,0 баллов, стандарт – 4,4 балла); характеризуются относительно высокой массой 1000 зерен, которая у обеих линий в среднем за три года составила 47,0 г, у стандарта Родник Прикамья – 44,0 г.

Таблица 15

Характеристика источников, используемых в гибридизации ячменя

№ каталога ВИР	Образец	Происхождение	Источник признака
29216	Дина	Россия, Кировская обл.	Высокая урожайность, скороспелость, устойчивость к полосатой и сетчатой пятнистости
30020	Дуэт	Россия, Кировская обл.	Высокая урожайность, устойчивость к ринхоспориозу
29417	Эколог	Россия, Кировская обл.	Высокая урожайность, иммунитет к пыльной головне, устойчивость к полосатой пятнистости
30806	Новичок	Россия, Кировская обл.	Толерантность к кислым почвам, устойчивость к ринхоспориозу.
-	Форвард	Россия, Кировская обл.	Высокая урожайность, устойчивость к полосатой, сетчатой и темно-бурой пятнистости
30451	Зерноградский 770	Россия, Ростовская обл.	Устойчивость к полосатой пятнистости
30888	Петр	Россия, Кемеровская обл.	Устойчивость к пыльной головне
30820	Нур	Россия, Московская обл.	Устойчивость к темно-бурой пятнистости, ринхоспориозу
29352	Риск	Россия, Московская обл.	Высокая урожайность
30899	Лука	Россия, Кемеровская обл.	Высокая урожайность, крупнозерность, высокобелковость, устойчивость к полосатой пятнистости
30821	Annabell	Германия	Высокая урожайность, устойчивость к ринхоспориозу
19304	Keystone	Канада	Устойчивость к ринхоспориозу и черному бактериозу
35415	NCL 95098	Аргентина	Устойчивость к пыльной головне, полосатой и темно-бурой пятнистости
-	SV 88764	Швеция	Устойчивость к кислым почвам
31001	Patricia	Франция	Устойчивость к полосатой и сетчатой пятнистости
5210	Makbo	Австралия	Устойчивость к полосатой, сетчатой и темно-бурой пятнистости
31170	Калькюль	Германия	Устойчивость к полосатой, сетчатой и темно-бурой пятнистости
31169	Эвергин	Финляндия	Устойчивость к полосатой пятнистости
31143	Irbe (PR-3528)	Латвия	Устойчивость к полосатой пятнистости

Таблица 16

Характеристика перспективных линий ячменя (питомник конкурсного испытания)

Линия	Происхождение	Урожайность, т/га				Устойчивость к болезням
		2021 г.	2022 г.	2023 г.	среднее	
279-18	(Sv 88764 х Дуэт) х Annabel	3,11	6,21	4,98	4,77	Темно-бурая и полосатая пятнистости
205-16	(Нур х Михайловский) х Петр	3,28	5,58	5,37	4,74	Пыльная головня, темно-бурая, сетчатая и полосатая пятнистости
207-16	(Нур х Михайловский) х Петр	3,02	5,72	5,11	4,62	Полосатая и сетчатая пятнистости
65-17	((Адам х Дуэт) х (Thuringie х Эколог)) х Памяти Чепелева	2,83	6,65	5,45	4,98	Темно-бурая пятнистость
15-16	(Thuringie х Эколог) х Андрей	2,90	6,25	5,05	4,73	Темно-бурая пятнистость
223-18	[((Dzor-502 х Домен) х Зазерский 85)) х (Андрей х 122-83)] х Форсаж	2,97	5,48	4,98	4,48	Сетчатая пятнистость, корневые гнили
Родник Прикамья – стандарт		2,58	5,31	4,10	4,00	-
$НСР_{05}$		0,39	0,68	0,68	-	-

Присутствие в родословных выделенных селекционных линий сортов Дуэт и Эколог свидетельствует об их высокой общей комбинационной способности и перспективности использования в селекционных программах по созданию болезнеустойчивых сортов ячменя.

В 2023 году устойчивая к пыльной головне, темно-бурой, сетчатой и полосатой пятнистости селекционная линия 205-16 передана на государственное сортоиспытание под названием Баско.

ГЛАВА 5
АГРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НОВЫХ СОРТОВ ЯЧМЕНЯ СЕЛЕКЦИИ ФАНЦ СЕВЕРО-ВОСТОКА

Ячмень яровой Боярин. Сорт ярового ячменя Боярин (селекционный номер 346-09) создан методом внутривидовой ступенчатой гибридизации с использованием коллекционных образцов (рис. 16) с последующим индивидуальным отбором во втором поколении.

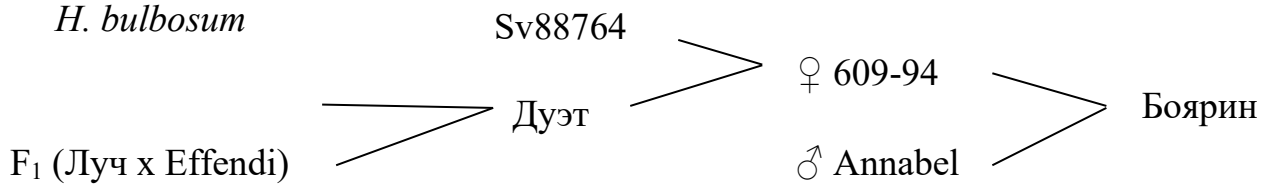

Рисунок 16. **Генеалогия сорта ячменя Боярин**

На первом этапе селекции проведена комплексная оценка коллекционных образцов и выделены источники, отвечающие цели исследований. Сорта Sv 88764 (Швеция) и Дуэт (РФ, ФАНЦ Северо-Востока) характеризуются как высокоурожайные и толерантные к стрессовым факторам кислых дерново-подзолистых почв. Полученная в результате скрещивания линия 609-94 в 2007 году была использована в гибридизации с высокоурожайным, устойчивым к полеганию и ринхоспориозу, отличающимся хорошим качеством зерна сортом Annabel (Германия).

Морфологическое описание сорта. Сорт двурядного типа (*Hordeum vulgare* L., sensu lato.) относится к разновидности *nutans*. Форма куста в период кущения полупрямостоячая. Опушение листовых влагалищ нижних листьев отсутствует, имеется слабая антоциановая окраска ушек и стеблевых узлов. Встречаемость растений с наклоненным флаговым листом средняя. Соломина прочная полая, средней толщины (диаметр нижнего междоузлия составляет в среднем 24 мм). Колос двурядный, цилиндрической формы, со средним восковым налетом, средней длины (7-9 см) и плотности (13 члеников колосового стержня на 4 см в средней части колоса), соломенно-желтый. Положение колоса в фазу полного колошения – горизонтальное. Ости длинные, зазубренные, с антоциановой окраской кончиков от средней до сильной интенсивности (рис. 17).

Хозяйственные и биологические свойства сорта. В питомнике конкурсного испытания (2016-2019 гг.) сорт Боярин сформировал урожайность 6,15 т/га (2017 г.), превышая стандарт Белгородский 100 в отдельные годы на 0,9 т/га (2018 г.). В засушливом 2016 г. урожайность его составила 2,58 т/га, при 2,10 т/га у стандарта. Новый сорт среднеранний при продолжительности вегетационного

периода от 76 до 97 дней; формирует высокопродуктивный стеблестой (390 шт./м^2) за счет хорошей выживаемости и кустистости растений (2,0 шт./раст.), имеет прочную соломину и характеризуется высокой устойчивостью к полеганию (5,0 баллов). Масса 1000 зерен – 47 г, натура – 683 г/л, содержание белка в зерне – 12,2 %. По качеству зерна относится к сортам зернофуражного использования.

Рисунок 17. **Ячмень яровой сорта Боярин**

По данным ФГБУ «Госсорткомиссия», урожайность сорта Боярин по Волго-Вятскому региону в 2021-2022 гг. составила в среднем 3,96 т/га. В Нижегородской области она была на уровне 3,53 т/га, в Свердловской области – 4,57 т/га, что выше по отношению к стандарту на 0,27 и 0,37 т/га соответственно. Максимальная урожайность (6,52 т/га) получена в Пермском крае в 2022 году. Оценка экономической эффективности возделывания нового сорта показала, что себе-

стоимость производства зерна составила на 8,6 % меньше, а чистого дохода получили на 18,0 % больше, чем у стандартного сорта при одинаковых затратах на 1 га.

Сорт ярового ячменя Боярин (патент № 12877 от 08.06.2023 г.) с 2023 г. включен в Государственный реестр селекционных достижений и допущен к использованию по Волго-Вятскому (4) региону.

Ячмень яровой Баско. В 2023 году за высокую урожайность, устойчивость к болезням и полеганию на государственное сортоиспытание передан сорт ярового ячменя Баско (селекционная линия 205-16) (заявка на выдачу патента № 89028/7652941 с датой приоритета 10.05.2023 г.). Сорт создан путем беккросса с сортом НИР ((Нур х Михайловский) х Петр)) и последующим трехкратным индивидуальным отбором на искусственном инфекционном фоне по пыльной головне.

Морфологическое описание сорта. Сорт двурядного типа (*Hordeum vulgare* L., sensu lato.), относится к разновидности *nutans* (рис. 18). Куст промежуточный. Опушение листовых влагалищ нижних листьев отсутствует. Антоциановая окраска ушек и стеблевых узлов отсутствует или очень слабая.

Рисунок 18. **Ячмень яровой Баско**

Встречаемость растений с наклоненным флаговым листом средняя. Соломина полая, средней толщины, прочная, диаметр нижнего междоузлия 24 мм. Колос двурядный, цилиндрической формы, со средним-сильным восковым налетом, средней длины (6-7 см) и плотности (14-15 члеников на 4 см колосового стержня), соломенно-желтый. Ости длинные, зазубренные по всей длине, соломенно-желтые. Переход цветковой чешуи в ость постепенный. Опушение основной щетинки зерновки длинное. Внутренние нервы наружной цветковой чешуи зазубрены. Бороздка зерновки не опушена. Масса 1000 зерен – 46 г.

Хозяйственно-биологическая характеристика. Сорт среднеспелый, вегетационный период составляет от 72 до 78 дней. Характеризуется высокой устойчивостью к полеганию. Пригоден к механизированной уборке, устойчив к пониканию колоса и прорастанию на корню.

Сорт формирует крупное зерно с хорошими технологическими свойствами: натура – 645 г/л, выход зерна – 55 %, содержание белка в зерне – 13,5 %.

В конкурсном испытании сорт сформировал урожайность 3,28-6,07 т/га, превышая стандарт Родник Прикамья на 0,15-0,76 т/га.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На данном этапе селекции создание болезнеустойчивых сортов ярового ячменя в ФАНЦ Северо-Востока осуществляется в основном классическими методами (гибридизация, отбор) с предварительным изучением генофонда культуры на искусственных инфекционных фонах местных популяций фитопатогенов.

С 2020 года в создании устойчивых сортов ярового ячменя используется маркер-вспомогательная селекция (marker-assisted selection – MAS). С помощью ПЦР-анализа осуществляется поиск молекулярных маркеров и новых генов устойчивости к *U. Nuda*, *U. hordei, P. teres* и *C. sativus*, обосновывается их использование в селекции новых сортов ячменя.

Еще с 90-х годов прошлого столетия в ФАНЦ Северо-Востока имеется богатый опыт применения методов сельскохозяйственной биотехнологии. В основу технологии положено культивирование каллусной ткани на селективных средах с токсинами грибов *Helminthosporium* spp. и *Fusarium* spp. с последующей регенерацией растений. Были получены достаточно высокоурожайные, по сравнению с исходными формами и стандартами, регенератные линии ячменя, сочетающие устойчивость к биотическим и абиотическим стрессорам. Созданы четыре линии (917-01, 530-98, 496-07, 781-04), у которых степень поражения болезнями была существенно ниже стандартов. В настоящее время на основе этих линий выведены сорта Форвард, Бионик и Витрум. Использование биотехнологических и молекулярно-генетических методов, безусловно, ускоряет селекционный процесс и повышает эффективность селекции на фитоиммунитет.

Привлекая в скрещивания источники устойчивости к болезням, выявленные и отобранные в условиях жестких инфекционных фонов, созданы перспективные линии ячменя. Особую селекционную ценность представляют 5 линий (15-16, 207-16, 65-17, 223-18, 279-18), созданные с участием геноплазмы устойчивых к отдельным болезням сортов Дина, Петр, Дуэт, Эколог, Sv 87448, Annabel и другие. Линии изучаются в питомнике конкурсного испытания и характеризуются высокими показателями селекционно-ценных признаков (урожайность, устойчивость к болезням, скороспелость). Созданные за последние годы сорта ярового ячменя Боярин и Баско характеризуются не только высокими показателями урожайности и качества продукции, но и устойчивостью к наиболее опасным грибным болезням.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Афанасенко О. С. Методические указания по диагностике и методам полевой оценки устойчивости ячменя к возбудителям пятнистости листьев. Пушкин: ВИР. 1987. 19 с.

Афанасенко О. С., Макарова И. Г., Зубкович А. А. Число генов у ячменя, детерминирующих устойчивость к штаммам *Pyrenophora teres* Drechs. // Генетика. 1999. Т. 35. № 3. С. 341-351.

Афанасенко О. С., Левитин М. М., Михайлова Л. А., Колобаев В. А., Гагкаева Т. Ю. Иммунологические основы селекции зерновых культур и картофеля на устойчивость к болезням // Вестник защиты растений. 2000. № 1. С. 3-10.

Афанасенко О. С. Устойчивость ячменя к гемибиотрофным патогенам / Идентифицированный генофонд растений и селекция. СПб.: ВИР, 2005. С. 592-609.

Афанасенко О. С. Современное состояние исследований генетики устойчивости ячменя к болезням // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2013. Т. 171. С. 3-8.

Бенкен А. А., Хрустовская В. Н. Лабораторная оценка болезнеустойчивости растений и паразитических свойств возбудителей обыкновенной корневой гнили // Труды ВИЗР. 1977. С. 9-13.

Бразене З. Влияние азотных удобрений на распространение болезней листьев и урожай зерна различных сортов ярового ячменя. Защита растений на рубеже XXI века: материалы научно-практической конференции, посвященной 30-летию БелНИИЗР. Минск-Прилуки. 2001. С. 168-170.

Вильданова Г. В., Блохин В. И., Ганиева И. С., Ланочкина М. М. Молекулярно-генетическая оценка селекционного материала ячменя на устойчивость к каменной головне // Зерновое хозяйство России, 2015. № 5. С. 30-33.

Гаркавый П. Ф., Кирдогло Е. К. Методические указания по изучению иммунитета ячменя к пыльной головне и селекции устойчивых сортов. Одесса: ВСГИ, 1980. 28 с.

Гешеле Э. Э. Методическое руководство по фитопатологической оценке зерновых культур. Одесса.1971. 178 с.

Гончарова Э. А. Стратегия диагностики и прогноза устойчивости сельскохозяйственных растений к погодно-климатическим аномалиям // Сельскохозяйственная биология. 2011. № 1. С. 24-31.

Григорьев М. Ф. Методические указания по изучению устойчивости зерновых культур к корневым гнилям. Л., 1976. 60 с.

Донцова А. А. Использование молекулярных методов селекции на устойчивость к сетчатой пятнистости ячменя (обзор) // Научный журнал Кубанкий ГАУ, 2015. № 113 (09). С. 1-11.

Дьяков Ю. Т. Типы устойчивости растений и их практическое использование // Типы устойчивости растений к болезням: Материалы научного семинара. СПб., 2003. С. 5-10.

Захаренко В. А. Фитосанитарный мониторинг агроэкосистем и его научно-методическое обеспечение мониторинга земель сельскохозяйственного назначения. Материалы Всероссийской научной конференции. М., 2010. С. 124-138.

Зобова Н. В. Повышение устойчивости ячменя к стрессовым биотическим и абиотическим факторам в Сибири (генетико-биотехнологические аспекты): автореф. дис. … д-ра с.-х. наук. Красноярск: Краснояр. гос. аграр. ун-т, 2009. 32 с.

Иванова М. И., Ларионова Т. В., Каранова С. Л., Костяновский Р. Г., Лудилов В. А. Влияние N-НММ на выживаемость разных сортов сельдерея // Стратегия адаптивной селекции полевых культур в связи с глобальным изменением климата: сборник трудов науч.-практ. конф. Саратов, 2004 С. 388-389.

Калашникова Е. А. Клеточная селекция растений на устойчивость к грибным болезням: дис. ... д-ра биол. наук. М., 2003. 279 с.

Калашникова Е.А. Клеточная инженерия растений: учебное пособие. М.: Изд-во РГАУ-МСХА, 2012. 318 с.

Каримова В. К., Нечай Н. Л., Есимсеитова А. К., Нурмаганбетова А. Н., Измаганбетова А. Ж., Какимжанова А. А. Использование изолятов гриба *Phytophthora infestans* в клеточной селекции картофеля // Биотехнология. Теория и практика. 2013. № 4. С. 36-41. DOI: 10.11134/btp.4.2013.5.

Карпухина А. М., Долгова Е. М., Юшкина Л. Л., Кузьмина Н. Н. Разработка селективных сред для повышения устойчивости к грибным заболеваниям у ярового ячменя // Физиология и биохимия культурных растений. 1999. Т. 31. С. 382-386.

Кильчевский А. В., Хотылева Л. В. Генетические основы селекции растений. В 4 т. Т. 3. Биотехнология в селекции растений. Клеточная инженерия. Минск: Беларус. навука, 2012. 489 с. ISBN 978-985-08-1392-3.

Киселева М. И., Коваленко Е. Д. Схема оценки устойчивости сортов ячменя к возбудителям корневой гнили и отбора выносливых форм // Новые методы селекции и создания сортов сельскохозяйственных культур: перспективы и результаты. Киров, 1998. С. 134-135.

Коваленко Е. Д., Киселева М. И. Исходный материал для селекции сортов ячменя с групповой устойчивостью к основным возбудителям болезней // Агро XXI. 2001. №. 11. С. 19.

Ковригина Л. Н., Степанюк Г. Я. Сопряженность элементов продуктивности с признаками структуры стебля у сортов и гибридов ячменя // Вестник Кемеровского государственного университета. 2013. № 1 (53). С. 31-34.

Ковригина Е. А., Шешегова Т. К. Влияние методов инокуляции на развитие обыкновенной корневой гнили на проростках ячменя // Методы и технологии в селекции растений: Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Киров: НИИСХ Северо-Востока, 2014. С.139-142.

Кривченко В. И., Хохлова А. П. Селекционная ценность генов устойчивости ячменя к пыльной головне // Бюллетень ВИР. Рожь и зернофуражные культуры. Л., 1980. Вып. 104. С. 72-75.

Кривченко В. И. Устойчивость зерновых колосковых к возбудителям головневых болезней. М.: Колос, 1984. 304 с.

Кривченко В. И., Мягкова Д. В., Жукова А. Э., Хохлова А. П. Методические указания по изучению головнеустойчивости зерновых колосовых культур. Л., 1987. 109 с.

Кривченко В. И., Одинцова И. Г. Каталог мировой коллекции ВИР. Выпуск 453. Сорта зерновых культур с известными генами устойчивости к грибным болезням. Л.: ВИР, 1988. 78 с.

Лашина Н. М. Создание дигаплоидов ячменя как исходного материала для селекции сортов с групповой устойчивостью к болезням: автореф. дис. … канд. биол. наук. СПб.: Всероссийский НИИ защиты растений, 2015. 23 с.

Лаврова Н. В. Разработка и применение биотехнологий для получения устойчивых к фузариозу растений озимой пшеницы (гаплоидная) и огурца (меристемная, каллусная и микроспорогенная): автореф. дис. … д-ра биол. наук. М.: Московская сельскохозяйственная академия имени К. А. Тимирязева, 2006. 46 с.

Легкун И. Б. Создание и оценка сортов ячменя озимого на групповую устойчивость к головневым заболеваниям //Вавиловский журнал генетики и селекции. 2015. № 19 (2). С. 191-196.

Леонова Н. С. Изменчивость в культуре картофеля (*Solanum tuberosum* L.) *in vitro* и возможности ее использования в селекции и семеноводстве: автореф. дис. … д-ра биол. наук. Улан-Удэ: Вост.-Сиб. гос. технол. ун-т, 2010. 32 с.

Леонова И. Н. Молекулярные маркеры: использование в селекции зерновых культур для идентификации, интрогрессии и пирамидирования генов // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2013. Том 17. № 2. С. 314-325.

Лети Д. Получение форм пшеницы (*Triticum aestivum*), устойчивых к грибу *Septoria nodorum* в условиях *in vitro*: автореф. дис. … канд. с.-х. наук. М.: Московская сельскохозяйственная академия имени К. А. Тимирязева, 1998. 23 с.

Макаров А. А., Стрижекозин Ю. А., Соломатин Д. А. Количественная классификация сортов пшеницы по степени расонеспецической устойчивости к бурой ржавчине // Иммунитет сельскохозяйственных культур к возбудителям грибных болезней. М., 1991. С. 105-110.

Манешина Т. В., Кипнис Е. А., Обухович Е. М., Картель Н. А. Отбор сомаклонов различных генотипов ячменя, устойчивых к корневой гнили *Helminthosporium sativum* P.R. et B. // Проблемы генетики. Минск, 1994. С. 99-108.

Мепаришвили Г. В. Использование сомаклональной изменчивости в создании форм пшеницы, устойчивых к фузариозу: автореф. дис. … канд. биол. наук. М.: Всерос. науч.-исслед. ин-т фитопатологии, 2002. 20 с.

Мешкова Л. В., Николаев П. Н., Васюкевич С. В., Сабаева О. Б., Пяткова О. В. Иммунологическая характеристика ячменя и овса по устойчивости к природным популяциям головнёвых заболеваний // Достижения науки и техники АПК. 2020. Т. 34. № 10. С. 43-49. doi: 10.24411/0235-2451-2020-11006

Нижегородцева Л. С., Вильданова Г. В., Блохин В. И., Ланочкина М. А. ДНК-генотипирование ярового ячменя на устойчивость к пыльной головне методом ПЦР // Вестник Казанского государственного аграрного университета, 2015. Т. 10. № 3 (37). С. 98-101. DOI 10.12737/14778. EDN VJTLPJ.

Озерецковская О. Л. Механизмы индуцирования элисторами системной устойчивости растений к болезням // Физиология растений. 1994. Т. 41. № 4. С. 626-633.

Петрова О. С., Афанасенко О. С. Методические рекомендации по диагностике и методам оценки устойчивости овса к возбудителям пятнистостей листьев. СПб., 2003. 28 с.

Пролетова Н. В. Культура пыльников в селекции льна-долгунца на устойчивость к фузариозному увяданию: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М.: Московская с.-х. академия имени К. А. Тимирязева, 2002. 16 с.

Радченко Е. Е. Изучение генетических ресурсов зерновых культур по устойчивости к вредным организмам. Методическое пособие. Россельхозакадемия, 2008. 416 с.

Раскалиева В.А. Использование методов биотехнологии в получении исходных форм моркови, устойчивых к патогенному грибу *Alternaria radicina* M., Dr. Et E.: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М.: Московская сельскохозяйственная академия имени К. А. Тимирязева. 2001. 22 с.

Решетников В. Н., Спиридович Е.В., Носов А.М. Биотехнология растений и перспективы ее развития // Физиология растений и генетика. 2014. Т. 46. № 1. С. 3-18.

Родина Н. А., Ефремова З. Г. Методические рекомендации по селекции ячменя на устойчивость к болезням и их применение в НИИСХ Северо-Востока. М. 1986. 79 с.

Родина Н. А., Родин Е. А., Ефремова З. Г. Использование методов биотехнологии в создании исходного материала ярового ячменя, устойчивого к корневым гнилям полосатой пятнистости // Материалы IX Всесоюзного совещания по иммунитету растений к болезням и вредителям. Минск, 1991. Т. 1. С. 150-152.

Родина Н. А., Солодянкина М. М. Скрининг генотипов ячменя, толерантных к Al^{3+} в условиях водной культуры // Научные основы стратегии адаптивного растениеводства Северо-Востока Европейской части России: матер. науч.-практ. конф. 9-10 октября 1996 г. Киров: НИИСХ Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого, 1999. С. 31-39.

Родина Н. А., Коваленко Е. Д., Киселева М. И. Исходный материал ячменя для селекции сортов с устойчивостью к основным заболеваниям // Агрохимия. 2002. № 4. С. 11-15.

Родина Н. А. Селекция ячменя на Северо-Востоке Нечерноземья. Киров: Зональный НИИСХ Северо-Востока, 2006. 486 с.

Савицкая А. Г., Литовка Ю. А., Рязанова Т. В., Зобова Н. В. Клеточная селекция зерновых растений на устойчивость к микотоксинам грибов рода *Fusarium* // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. 2013. №. 6. С. 87-91.

Сельдимирова О. А., Круглова Н. Н., Галин И. Р., Веселов Д. С. Влияние эндогенных фитогормонов на соматический эмбриогенез in vitro у ячменя // Механизмы устойчивости растений и микроорганизмов к неблагоприятным условиям среды. 2018. С. 1363-1366.

Сорокатая Е. И. Использование биотехнологических методов для получения устойчивых к корневым гнилям форм ярового ячменя: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Красноярск: Красноярский гос. аграр. ун-т, 2001. 19 с.

Система ведения агропромышленного производства Кировской области на период до 2005 г. под редакцией Сысуева В. А. Киров: Зональный НИИСХ Северо-Востока, 2000. 267 с.

Сурин Н. А., Громовых Т. И., Зобова Н. В., Сорокатая Е. И., Солдатенко А. Г. Получение регенерантов ярового ячменя, устойчивых к токсинам возбудителей корневых гнилей в условиях Восточной Сибири // Микология и фитопатология. 2002. Т. 36. № 2. С. 67-71.

Сурин Н. А., Ляхова Н.Е. Рекомбинационная селекция ячменя с использованием мировой коллекции ВНИИР им. Н.И. Вавилова в Восточной Сибири // Развитие научного наследия Н. И. Вавилова в современных селекционных исследованиях. Казань: Центр инновационных технологий, 2012. С.173-178.

Сущевич Ю.А. Изучение наследования признака устойчивости ячменя к сетчатой пятнистости и создание источников устойчивости с комплексом селекционно-ценных признаков // Вестник Белорусской государственной сельскохозяйственной академии. 2021. № 1. С.77-81.

Терещенко Н. А. Хромосомная локализация генов устойчивости к пыльной головне ячменя. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук. М., 2001. 21 с.

Ториков В. Е., Мельникова О. В., Клименков Ф. И., Устойчивость к болезням сортов ярового ячменя в зависимости от уровня минерального питания // Вестник Брянской сельскохозяйственной академии. 2007. № 5. С. 31-35.

Ткачева А.А. Методы IN VITRO в селекции огурца (*Cucumis Sativus* L.) на устойчивость к фузариозу: автореф. дис. … канд. с.-х. наук. М.: Всерос. науч.-исслед. ин-т овощеводства, 2007. 20 с.

Хохлова А. П. Устойчивость ячменя к пыльной головне и состав генов, контролирующий этот признак: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. Всесоюз. НИИ растениеводства. Л.: Всесоюз. НИИ растениеводства, 1990. 17 с.

Хлесткина Е. К. Молекулярные маркеры в генетических исследованиях и в селекции // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2013. Т.17. № 4 (2). С. 1044-1054.

Чулкина В. А., Павлова О. И., Торопова Е. Ю. Фитосанитарная роль минеральных удобрений. Системно-экологическая оптимизация фитосанитарный технологии. Новосибирск, 2009. С. 19-28.

Шаяхметов И. Ф., Круглова Н. Н., Зайнутдинова Э. М. Повышение эффективности соматического эмбриогенеза яровой пшеницы в культуре *in vitro* // Итоги биологических исследований. Уфа: БашГУ, 2004. С. 56-60.

Шевелуха В. С., Калашникова Е. А., Кочиева Е. З. Сельскохозяйственная биотехнология: учебник 3-е изд. перераб. и доп. М.: Высш. шк., 2008. 710 с.

Шевцов В. М., Малюга Н. Г., Пикушова Э. А., Лобач И. А. Устойчивость озимого ячменя к болезням // Труды Кубанского государственного аграрного университета. 2009. № 1 (16). С. 77-83.

Шешегова Т. К. Технология оценки и отбора исходного материала с групповой устойчивостью (6-9 баллов) к наиболее распространенным и потенциально опасным болезням зерновых культур на Северо-Востоке НЗ РФ (корончатая ржавчина, пыльная головня, корневые гнили, полосатая и сетчатая пятнистость). Завершенная разработка. Киров: СВРНЦ, 2010. 18 с. (в рукописи).

Шешегова Т. К. Анализ фитосанитарного состояния посевов яровых зерновых культур в Кировской области (Аналитический обзор) // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2015. № 5(48). С. 10-14.

Шешегова Т. К., Градобоева Т. П., Щеклеина Л. М., Кедрова Л. И., Щенникова И. Н., Харина А. В. Направления и результаты исследований по иммунитету зерновых культур в НИИСХ Северо-Востока // Иммуногенетическая защита сельскохозяйственных культур от болезней: теория и практика. Большие Вяземы: ВНИИФ, 2012. С.345-354.

Шешегова Т. К., Щеклеина Л. М., Щенникова И. Н., Мартьянова А. Н. Зависимость грибной инфекции зерновых культур от сезонной динамики климатических факторов // Достижения науки и техники АПК. 2017. Т. 31. № 4. С. 58-62.

Шешегова Т. К., Щенникова И. Н. Источники устойчивости ячменя к гельминтоспориозным болезням и их использование в ФАНЦ Северо-Востока // Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет). 2020. № 2. С. 76-83. https://doi.org/10.31677/2072-6724-2020-55-2-76-83

Широких И. Г., Широких А. А., Шуплецова О. Н. Биотехнологические методы в генетико-селекционных исследованиях ячменя / Современные аспекты селекции, семеноводства, технологии, переработки ячменя и овса: Материалы междун. науч.-практ. конф. Киров: НИИСХ Северо-Востока, 2004. С. 111-114.

Шуплецова О. Н., Щенникова И. Н. Результаты использования клеточных технологий в создании новых сортов ячменя, устойчивых к токсичности алюминия и засухе // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016. Т. 20. № 5. С. 623-628.

Шуплецов, О. Н., Шешегова Т. К., Щенникова И. Н. Изучение регенерантов ячменя на устойчивость к фитопатогенам // Защита и карантин растений. 2017. № 10. С. 16-19.

Щенникова И. Н., Шуплецова О. Н., Кунилова А. В. Регенеранты ячменя – исходный материал для селекции сортов в условиях меняющегося климата // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2013. № 3(34). С. 9-11.

Щенникова И. Н., Шешегова Т. К., Кокина Л. П., Зайцева И. Ю., Ковалева О. Н. Биоресурсы ячменя ярового для селекции новых коммерческих сортов в условиях Волго-Вятского региона. Методическое руководство / Под редакцией академика РАН Г. А. Баталовой. Киров: ФГБНУ ФАНЦ Северо-Востока, 2022. 28 с. (Электронный ресурс). Режим доступа: http://fanc-sv.ru/uploads/docs/2022/Биоресурсы-ячменя-2022.pdf

Яруллина Л. Г., Трошина Н. Б., Сурина О. Б., Максимов И. В. Применение совместного культивирования каллусных культур пшеницы (*Triticum aestivum* L.) с патогенными грибами в исследовании механизмов фитоиммунитета. Биология растений и садоводство: теория, инновации, 2009. № 131. С. 148-152.

Afanasenko O. S., Koziakov A. V., Hedlay P., 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 // Russian Journal of Genetics: Applied Research. 2015. T. 5. C. 242-253.

Ali S., Laurie J. D., Linning R., Cervantes-Chávez J. A., Gaudet D., et al. An immunity-triggering effector from the barley smut fungus *Ustilago hordei* resides in an ustilaginaceae-specific cluster bearing signs of transposable element-assisted evolution // PLOS Pathogens, 2014. V. 10 (7) e1004223. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004223

Arellano L. L., Ramos L., Korneva S. B., Pilco J., Chávez G. Resistance to brown rust disease (*Puccinia melanocephala* Syd.) evaluation of sugar cane (*Saccharum* spp. híbrido) somaclons obtained in Ecuador // Fitosanidad. 2011. V. 15. No. 4. P. 245-250.

Ardiel G. S., Grewal T. S., Deberdt P., Rossnagel B. G., Scoles G. J. Inheritance of resistance to covered smut in barley and development of a tightly linked SCAR marker // Theor Appl Genet, 2002. V. 104. P. 457-464.

Bilgic H., Steffenson B. J., Hayes P. M. Comprehensive genetic analyses reveal differential expression of spot blotch resistance in four populations of barley // Theoretical and Applied Genetics. 2005. T. 111. P. 1238-1250.

Bilgic H., Steffenson B. J., Hayes P. M. Molecular mapping of loci conferring resistance to different pathotypes of the spot blotch pathogen in barley // Phytopathology. 2006. T. 96. No.7. P. 699-708.

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 // Molecular breeding. 2010. T. 26. P. 653-666.

Cakir M., Gupta S., Platz G.J., Ablett G.A., Loughman R., Emebiri L.C., Poulsen D., Li C.D., Lance R.C.M., Galwey N.W., Jones M.G.K., Appels R. Mapping and validation of the genes for resistance to *Pyrenophora teres* f. *teres* in barley (*Hordeum vulgare* L.) // Aust. J. Agric. Res. 2003. V. 54. P. 1369-1377.

Chelkowski J., Tyrka M., Sobkiewicz A. Resistance genes in barley *(Hordeum vulgare* L.) and their identification with molecular markers // J. Appl. Genet, 2003. V. 44 (3). P. 291-309.

Colas V., Lacourt I., Ricci P., Vanlerberghe-Masutti F., Poupet A., Panabières F. Diversity of Virulence in Phytophthora parasitica on Tobacco, as Reflected by Nuclear RFLPs. Phytopathology 1998. No. 88(3). P. 205-12 DOI:10.1094/PHYTO.1998.88.3.205.

Ell P. R., Forster F. P., Robinson D., Handley L. L., Gordon D. C., Russel J. R., Powell W. Wild barley: a source of genes for crop improvement in the 21st century // J. of Experimental Biology. 2000. V. 51. No. 342. P. 9-17.

Emebiri L. C., Platz G., Moody D. B. Disease resistance genes in a doubledhaploid population of tworowed barley segregating formalting quality attributes // Aust. J. Agric. Res. 2005. V. 56 (1). P. 49-56.

Eckstein P. E., Krasichynska N., Voth D., Duncan S., Rossnagel B. G., Scoles G. J. Development of PCR-based markers for a gene *(Un8)* conferring true loose smut resistance in barley // Canadian Jornal of Plant Pathology, 2002. V. 24. P. 46-53.

Gergenbach B. G., Green C.-E. Selection of T-cytoplasm maize callus cultures resistant to Helminthosporium maydis Race T pathotoxin // Crop. Sci. 1975. V. 15. P. 645-649.

GrainGenes. A database for Triticeae and Avena. Albany, CA; 2021 /
URL: https://wheat.pw.usda.gov.

Grewal T. S., Rossnagel B. G., Scoles G. J Mapping of a covered smut resistance gene in barley *(Hordeum vulgare)* // Canadian Jornal of Plant Pathology, 2004. V. 26. P. 156-166.

Grewal T. S., Rossnagel B. G., Bakkeren G., Scoles G. J. Identification of resistance genes to barley covered smut and mapping of the *Ruhl* gene using *Ustilago hordei* strains with defined avirulence genes // Canadian Jornal of Plant Pathology, 2008 a. V. 30. P. 277-284.

Grewal T. S., Rossnagel B. G., Scoles G. J. Validation of molecular markers for covered smut resistance and marker-assisted introgression of loose and covered smut resistance into hulless barley // Mol Breeding, 2008 б. V. 21. P. 37-48.

Grewal T. S., Rossnagel B. G., Scoles G. J. Mapping quantitative trait loci associated with spot blotch and net blotch resistance in a doubled-haploid barley population // Molecular breeding. 2012. T. 30. P. 267-279.

Gupta S. Gupta S., Loughman R., Li C. D., Cakir M., Platz G., Westcott S., Bradley J., Broughto S., Lance R. Quantitative trait loci and epistatic interactions in barley conferring resistance to net type net blotch (*Pyrenophora teres* f. *teres*) isolates // Plant Breed. 2010. V. 4. P. 268-362.

Gupta S., Li C., Loughman R., Cakir M., Westcott S., Lance R. Identifying genetic complexity of 6H locus in barley conferring resistance to *Pyrenophora teres* f. teres // Plant Breeding. 2011. P. 423-429.

Johnson D. F., Wilcoxson R. D. A table of areas under disease progress curves. Technical Bulletin, Texas Agriculture Experiment Station. Texas. 1981. No 1377. P. 2-10.

Kutcher H. R., Bailey K. L., Rossnagel B. G., Legge W. G. Identification of RAPD markers for common root rot and spot blotch (*Cochliobolus sativus*) resistance in barley // Genome. 1996. T. 39. No. 1. P. 206-215.

Lavanya S. N., Udayashankar A. C., Niranjan Raj S., Mohan C. D., Gupta V.K., Tarasatyavati C., Srivastava R., Nayaka S. C. Lipopolysaccharide-induced priming enhances NO-mediated activation of defense responses in pearl millet challenged with Sclerospora graminicola 3 Biotech. 2018. No. 8(11). P. 475. doi: 10.1007/s13205-018-1501-y.

Leng Y., Zhao M., Wang R., Steffenson B. J., Brueggeman R. S., Zhong S. The gene conferring susceptibility to spot blotch caused by *Cochliobolus sativus* is located at the Mla locus in barley cultivar Bowman // Theoretical and Aplied Genetics. 2018. T. 131. No. 7. P. 1531-1539.

Livingston J. S. The inheritance of resistance to *Ustilago nuda* // Phythopathology, 1942. V. 32. No. 6. P. 451-466.

Ma Z.Q., Lapitan N.L.V., Steffenson B. QTL mapping of net blotch resistance genes in a doubled-haploid population of six-rowed barley. Euphytica. 2004. V. 137. P. 291–296.

Maltais K., Houde M. A new biochemical marker for aluminium tolerance in plants // Physiologia Plantarum. 2002. T. 115. No. 1. P. 81-86.

Manninen O., Jalli M., Kalendar R., Afanasenko O., Robinson J. Mapping of major spot type and net type net blotch resistance genes in the Ethiopian barley line CI 9819 // Genome. 2006. V. 49. P. 1564-1571.

Menzies J. G., Steffenson B. J., Kleinhofs A. A resistance gene to *Ustilago nuda* in barley is located on chromosome 3H // Canadian Jornal of Plant Pathology, 2010. V. 32 (2). P. 247-251.

Metcalfe D. R. Inheritance of resistance to loose smut, covered smut and false loose smut in the barley variety Jet // Canadian Jornal of Plant Sciences, 1962. V. 42. P. 176-189.

Metcalfe D. R. Inheritance of loose smut resistance. III. Relations between the "Russian" and "Jet" genes for resistance and genes in 10 barley varieties of diverse origin // Canadian Jornal of Plant Pathology, 1966. V. 46. P.487-495.

Mode C. Y., Schaller C. W. Two additional factors for host resistance to net blotch in barley // Agron. J. 1958. V. 50. P. 15-18.

Moseman J. G., Metcalfe D. R. Identification of resistance genes in barley by reactions to *Ustilago nuda* // Canadian Journal of Plant Science, 1969. No. 49 (4). P. 447-451. https://doi.org/10.4141/cjps69-073

Rines H. V., Luike H. H. Selection and regeneration of toxin-insensitive plants from tissue cultures of oats (*Avena sativa*) susceptible to Helminthosporium victoriae // Theor. Appl. Genet. 1985. Vol. 71. P. 16-21.

Röder M. S., Korzun V., Wendehake K., Plaschke J., Tixier M.-H., Leroy P., Ganal M. W. A microsatellite map of wheat // Genetics. 1998. V. 149. No. 4. P. 2007-2023. DOI: 10.1093/genetics/149.4.2007.

Spaner D., Spaner L. P. Shugar T. M., Choo I., Falak K., Briggs G., Legge W. G., Falk D. E., Ullrich S. E., Tinker N. A., Steffenson B. J., Mather D. E. Mapping of disease resistance loci in barley on the basis of visual assessment of naturally occurring symptoms // Crop Sci. 1998. V. 38. P. 843-850.

Steffenson B. J., 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. V. 92. P. 552-558.

Wang R., Leng Y., Ali S., Wang M., Zhong S. Genome-wide association maping of spot blotch resistance to three different pathotypes of *Cochliobolus sativus* in the USDA barley core collection // Molecular Breeding. 2017. T. 37. No. 4. P. 44.

Wang R., Leng Y., Zhao M., Zhong S. Fine mapping of a dominant gene conferring resistance to spot blotch caused by a new pathotype of *Bipolaris sorokiniana* in barley // Theoretical and Applied Genetics. 2019. T. 132 (1). P. 41-51. doi:10.1007/s00122-018-3192-5.

Wells S. A. Inheritance of reaction to *Ustilago hordei* (Pers.) Lagerh. In cultivated barley // Canadian Journal of Plant Science. 1958. T. 38. No. 1. P. 45-60.

Willits D. A., Sherwood J. E. Polymerase chain reaction detection of Ustilago hordei in leaves of susceptible and resistant barley varieties // Phytopathology, 2007. V. 89. No. 3. P. 212-217. https://doi.org/10.1094/PHYTO.1999.89.3.212

Zang W., Eckstein P. E., Colin M., Voth D., Himmelbach A., Beier S., Stein N., Scoles G. J., Beattie A. D. Fine mapping and identification of a candidate gene for the barley *Un8* true loose smut resistance gene // Theoretical and Applied Genetics, 2015. V. 128. P. 1343-1357. https://link.springer.com/article/10.1007/s00122-015-2510-4

Татьяна Кузьмовна Шешегова,
Ирина Николаевна Щенникова,
Ольга Наумовна Шуплецова,
Люция Муллаахметовна Щеклеина,
Анастасия Владимировна Харина

ТЕХНОЛОГИЯ ОЦЕНКИ И СОЗДАНИЯ ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ, УСТОЙЧИВОГО К БИОТИЧЕСКИМ СТРЕССОРАМ

Научно-практические рекомендации