

DOI: 10.30901/2658-3860-2018-1-12-17

Поступила: 25.09.2018

УДК 575.11:633.174:632.732:581.573.4

Оригинальная статья

Е. Е. Радченко¹,А. А. Зубов¹,Е. В. Малиновская²

¹Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова, Россия, 190000, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, д. 42, 44
e-mail: eugene_radchenko@rambler.ru

²Филиал Кубанская опытная станция Федерального исследовательского центра Всероссийского института генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Россия, 352183, Краснодарский край, п. Ботаника,
e-mail: alenamalinovskaja@yandex.ru

ДОНОРЫ УСТОЙЧИВОСТИ СОРГО К ОБЫКНОВЕННОЙ ЗЛАКОВОЙ ТЛЕ

Актуальность. Обыкновенная злаковая тля – *Schizaphis graminum* Rondani – ключевой вредитель сорго, у которого в настоящее время идентифицировано 15 генов устойчивости к этому насекомому. Гены устойчивости *Sgr5* – *Sgr15* ранее не использовались в селекции, однако дифференциальное взаимодействие с фитофагом не выявлено лишь для образцов, защищенных генами *Sgr7* – *Sgr11*. Необходимость продолжения поиска образцов сорго с новыми генами устойчивости вполне очевидна. **Материалы и методы.** В лабораторных условиях исследовали устойчивость к краснодарской популяции *S. graminum* тринадцати слабо повреждавшихся фитофагом в поле образцов сорго. Кроме того, изучали устойчивость выделенных ранее образцов зернового сорго из Китая и гибридов F₁ от скрещивания этих форм с неустойчивыми стерильными линиями. Анализировали также расщепление по устойчивости к популяции тли F₂ гибридов от скрещивания образцов к-1239 и к-1251 с восприимчивыми тестерами, а F₂ 'Сарваши с' × к-1251 – по отношению к клону, слабо повреждающему сорт 'Сарваши'. При изучении генетического контроля устойчивости сорго к тле применяли два экспериментальных подхода – изучение дифференциального взаимодействия насекомого с растением-хозяином и гибридологический анализ. **Результаты и выводы.** Выявили 9 образцов зернового, сахарного и дикого сорго, которые защищены аллелями генов устойчивости к обыкновенной злаковой тле, отличающимися от идентифицированных ранее аллелей генов *Sgr1* – *Sgr6* и *Sgr12*. Наиболее интересны для селекции на иммунитет чистые линии, отобранные из образцов зернового и сахарного сорго к-105, к-533, к-1239, к-3650, к-6339, к-10524. Показан доминантный характер наследования устойчивости к вредителю у десяти образцов зернового сорго из Китая: к- 830, к-831, к-931, к-932, к-933, к-1238, к-1239, к-1241, к-1251 и к-2588. Образцы к-1239 и к-1251 имеют по два высокоэффективных гена устойчивости (доминантному и рецессивному), которые не тождественны аллелям эффективных генов *Sgr5* и *Sgr6*. **Ключевые слова:** *Schizaphis graminum*, обыкновенная злаковая тля, сорго, гены устойчивости.

DOI: 10.30901/2658-3860-2018-1-12-17

Received: Sept. 25, 2018

Original article

E. E. Radchenko¹,A. A. Zubov¹,E. V. Malinovskaya²

¹N. I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR); 42–44, B. Morskaya St., St. Petersburg, 190000, Russia; e-mail: eugene_radchenko@rambler.ru

²Kuban Experiment Station, branch of the N. I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR); Botanika, Krasnodar Territory, 352183, Russia; e-mail: alenamalinovskaja@yandex.ru

DONORS OF GREENBUG RESISTANCE IN SORGHUM

Background. Greenbug (*Schizaphis graminum* Rondani) is a key pest of sorghum. By now, 15 resistance genes have been identified in this crop. The *Sgr5* – *Sgr15* resistance genes have not been used in breeding; however, differential interaction with the herbivore was revealed only for the accessions protected by the *Sgr7* – *Sgr11* genes. The necessity to continue searching for sorghum accessions with new resistance genes is quite obvious. **Materials and methods.** Under laboratory conditions, resistance to a Krasnodar population of *S. graminum* was analyzed in 13 accessions weakly damaged by this herbivore. Besides, the resistance of the earlier selected grain sorghum accessions from China and of F₁ hybrids from crosses of these forms with susceptible sterile lines was studied. Segregation for resistance to the aphid population in the F₂ hybrids from crossing the accessions k-1239 and k-1251 with susceptible testers was also analyzed. Segregation for resistance to a clone weakly damaging the cultivar 'Sarvashi' was studied in the F₂ 'Sarvashi s' × k-1251. When studying genetic control of sorghum resistance to the aphid, two experimental approaches were applied: examination of the differential insect-host interaction, and hybridological analysis. **Results and conclusions.** Nine accessions of grain, sweet and wild sorghum, protected by alleles of greenbug resistance genes differing from earlier identified alleles of the *Sgr1* – *Sgr6* and *Sgr12* genes, have been selected. Pure lines k-105, k-533, k-1239, k-3650, k-6339 and k-10524 selected from grain and sweet sorghum samples are most promising for use in breeding for resistance. A dominant inheritance pattern of greenbug resistance was demonstrated by ten grain sorghum accessions from China: k-830, k-831, k-931, k-932, k-933, k-1238, k-1239, k-1241, k-1251 and k-2588. Each of the accessions k-1239 and k-1251 has two highly effective resistance genes (dominant and recessive), which are not identical to alleles of the effective *Sgr5* and *Sgr6* genes.

Key words: *Schizaphis graminum* Rondani, sorghum, resistance genes.

Введение

Обыкновенная злаковая тля (*Schizaphis graminum* Rond.) – наиболее опасный вредитель сорго. Селекция устойчивых сортов рассматривается как наиболее радикальный, дешевый и экологически безопасный способ борьбы с насекомым. В селекционных программах России использовали лишь один донор устойчивости (венгерский сорт 'Сарваши'), что привело к генетической однородности посевов и, как следствие, к ускорению адаптивной микроэволюции фитофага. В настоящее время 'Сарваши' и его производные сильно повреждаются тлей. Образцы, устойчивые в США к ряду биотипов

насекомого, неэффективны против популяций фитофага из России.

В результате исследований, которые проводятся во Всероссийском институте генетических ресурсов растений им. Н. И. Вавилова, выделены источники устойчивости к обыкновенной злаковой тле в пределах всех хозяйственных групп сорго (зерновое, сахарное, веничное, травянистое), идентифицировано 15 генов устойчивости к насекомому (Radchenko, 2000, 2006; Radchenko, Zubov, 2007). Большая часть генов не использовалась в селекции, однако дифференциальное взаимодействие с фитофагом не выявлено лишь для образцов, защищенных генами *Sgr7*–*Sgr11*. Необходимость продолжения

поиска образцов сорго с новыми генами устойчивости вполне очевидна.

На коллекционных посевах филиала Кубанская опытная станция ВИР (КОС ВИР, Краснодарский край, Гулькевичский район) в 2002–2006 гг. оценили поврежденность тлей 1235 образцов возделываемых видов из всех центров формообразования культуры, а также 55 образцов дикого сорго. Выделили 22 устойчивых к *S. graminum* генотипа и 39 гетерогенных по изученному признаку форм. Цель настоящей работы – оценить выделившиеся в полевых опытах образцы на фоне искусственного заселения растений вредителем и изучить характер наследования устойчивости к тле у ряда форм.

Материалы и методы

В лабораторных условиях исследовали устойчивость к краснодарской популяции *S. graminum* 13 образцов, выделенных в поле. Оценивали не менее 15–20 растений каждого образца. Кроме того, изучили устойчивость выделенных ранее (Radchenko, 2000) образцов зернового сорго из Китая к-830, к-831, к-931, к-932, к-933, к-1238, к-1241, к-1251 и к-2588, а также гибридов F_1 от скрещивания этих форм с неустойчивыми стерильными линиями. Анализировали расщепление по устойчивости к популяции тли F_2 гибридов от скрещивания образцов к-1239 и к-1251 с восприимчивыми тестерами, а F_2 'Сарваши с' × к-1251 – по отношению к клону, слабо повреждающему сорт 'Сарваши'.

Для оценки устойчивости образцов сорго, а также для гибридологического анализа использовали краснодарскую (КОС ВИР) популяцию фитофага и выделенные из нее клоны, различающиеся по вирулентности к опытным образцам. Для получения клона одну самку тли изолировали на всходах пшеницы сорта 'Ленинградская 97' с помощью стеклянного изолятора. Садки с клонами насекомого размещали на светоустановках, оборудованных люминесцентными лампами. Дальнейшее поддержание клонов проводили путем стряхивания тлей в аналогичные садки.

Обыкновенная злаковая тля вызывает некротизацию растительной ткани в месте питания, что позволяет относительно просто тестировать устойчивость растений. Предварительно пророщенные семена высевали рядами в пластмассовые кюветы с нестерильной смесью почвы, песка и торфа. В каждую кювету помещали по одному ряду неустойчивого (линия

'Низкорослое 81') и устойчивого (к-924, 'Джугара белая') контролей и 8–9 рядков – испытуемые генотипы. При гибели неустойчивого контроля оценивали поврежденность растений в баллах. Использовали шкалу от 0 (нет повреждений) до 10 (повреждено 91–100% листовой поверхности). Растения с баллами 1–4 относили к устойчивым, 9–10 – к восприимчивым (Radchenko, 2008).

Для определения числа и характера взаимодействия генов, контролирующих устойчивость к *S. graminum*, образцы сорго скрещивали с неустойчивыми стерильными линиями. Использовали несколько неустойчивых тестеров с целью выяснить – насколько стабильно проявление генов устойчивости и как часто проявляются генетические взаимодействия, влияющие на характер расщепления. Техника скрещиваний с использованием цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС) заключалась в изоляции стерильных метелок до цветения и опылении устойчивой к тле отцовской формой через 5–10 дней после открытия цветков на всей метелке. Для идентификации генов устойчивости у образца к-1251 с генами широко используемого в селекции сорта 'Сарваши' в качестве материнского компонента использовали стерильную линию 'Сарваши с'.

Практически все выделенные нами формы однородны по морфологическим и биологическим признакам, однако гетерогенны по устойчивости к тле, поэтому перед началом исследований проводили двукратную жесткую браковку в фазе всходов, то есть скрещивали чистые линии, выделенные из коллекционных образцов. Скрещиваемые на основе ЦМС образцы различались по высоте растений: стерильные линии характеризовались короткостебельностью, опылители – высокорослостью. Гибриды F_1 по высоте ближе к отцовским формам. Потомство каждой материнской метелки высевали отдельно, семьями. Метелки растений F_1 изолировали до цветения с помощью пергаментных изоляторов. Расщепление F_2 гибридов по устойчивости к тле анализировали с помощью, описанной выше методики. При этом в каждую кювету помещали по одному ряду P_1 , P_2 , F_1 и по 7–8 рядков F_2 . Семена F_2 представляли собой потомство одного растения F_1 . Через 2–3 дня после появления всходов удаляли ослабленные, поздно взошедшие растения. В период появления второго листа гибриды заселяли тлей (краснодарской популяцией или клоном, выделенным из нее), из расчета 4 особи на

растение. Кюветы просматривали через 2 дня и при необходимости проводили дополнительное заселение. Поврежденность F2 гибридов от скрещивания устойчивых образцов с неустойчивыми тестерами оценивали при гибели неустойчивого родителя по шкале. Для того чтобы уменьшить ошибки классификации фенотипов, проводили 2 учета: при отмирании примерно 70% растений неустойчивой формы и через 2–3 дня, когда лишь единичные растения неустойчивой линии характеризовались баллом повреждения 9. Растения, сходные с материнской формой или неустойчивым контролем (баллы 9, 10), считали гомозиготно неустойчивыми (S). К устойчивому классу (R) относили растения, сходные по степени повреждения с отцовской формой (обычно 1–2), а также малочисленный класс, характеризующийся баллами повреждения 3–6.

Клоны с различными фенотипами вирулентности (“тест-клоны”) использовали для идентификации генов устойчивости у ряда выделенных форм. Метод тест-клонов позволяет исключить у исследуемого образца гены устойчивости, эффективные только против части популяции тли. Если хотя бы один клон, авирулентный к тестеру данного гена устойчивости, повреждает изучаемый сорт, это означает, что сорт не имеет функционального аллеля данного гена. Оценивали поврежденность в баллах устойчивых форм при заселении клоном, вирулентным к образцам к-3852 ‘Сарваши’ (гены устойчивости *Sgr1* + *Sgr2*), к-9921 ‘Shallu’ (*Sgr3*), к-6694 ‘Deer’ (*Sgr4*), к-9436 ‘Соргоградское’ (*Sgr5*), к-1362 ‘Дурра белая’ (*Sgr5* + *Sgr6*), к-455 ‘Сарбам’ (*Sgr12*) (Radchenko, Zubov, 2007). Устойчивость изучаемого образца к данному клону тли означала присутствие аллелей другого гена (генов) устойчивости.

Результаты и обсуждение

Среди 13 оцененных в лаборатории форм восприимчивым к насекомому оказался лишь один образец к-1149 (видимо, образец гетерогенен, а семенное потомство получено от неустойчивого растения). Наиболее высокой устойчивостью (поврежденность 1–2 балла) обладал образец зернового сорго к-1239 из Китая, а также дикорастущее сорго к-77 из Аргентины (табл. 1). Несколько сильнее (1–5 баллов) повреждались образцы к-105 из Уганды, к-6339 из Аргентины, к-533 из Палестины. Умеренной устойчи-

востью (3–8 баллов) характеризовался образец зернового сорго к-822. Широкий диапазон варьирования поврежденности этих форм может обуславливаться проявлением генов с низкой экспрессивностью и (или) присутствием в популяции фитофага клонов с различной вирулентностью к изученным образцам. Шесть образцов были отчетливо гетерогенны по устойчивости. Поврежденность устойчивых компонентов у этих форм варьировала от 2-х до 8-ми баллов. Двенадцать образцов проверили по устойчивости к клону, который характеризуется редко встречающейся вирулентностью к образцам с идентифицированными ранее генами устойчивости *Sgr1–Sgr6*, *Sgr12* (тестерные формы – ‘Сарбам’, ‘Shally’, ‘Сарваши’, ‘Deer’, ‘Соргоградское’, ‘Дурра белая’). Высокой устойчивостью к тест-клону обладали 6 образцов, умеренной устойчивостью характеризовались образцы к-533, к-9972 и к-1883. Очевидно, эти формы защищены генами устойчивости, отличающимися от *Sgr1–Sgr6*, *Sgr12*. Наблюдали отчетливое снижение экспрессии устойчивости образца к-533 к клону насекомого, что позволяет предположить присутствие у него нескольких (по крайней мере, более одного) генов с разной экспрессивностью. Сильно повреждались фитофагом 3 образца сорго.

Провели индивидуальный отбор по устойчивости к обыкновенной злаковой тле из гетерогенных образцов сорго. Наиболее интересны для селекции на иммунитет чистые линии, выделенные из образцов зернового и сахарного сорго к-105, к-533, к-1239, к-3650, к-6339, к-10524. Поврежденность этих линий популяцией насекомого не превышает трех баллов. Образец дикого сорго к-77, хотя и характеризовался высокой устойчивостью, навряд ли будет востребован селекцией в ближайшее время.

Особенно ценны для селекции устойчивые к тле линии сахарного сорго. По литературным данным (Krivchenko et al., 1988), образец к-533 достаточно скороспелый (период всходы-цветение – 79 дней), среднерослый (181 см), характеризуется метелкой средней длины (23 см) и слабой выдвинутостью оси соцветия (5 см), слабо-восприимчив к возбудителю пыльной головки. Период вегетации образца к-3650 – 92 дня, высота главного стебля – 155 см, длина метелки – 17,6 см., урожайность зеленой массы – 24,3 т/га, урожайность метелок – 6,5 т/га, суммарное содержание сахара в стеблях – 5,6% (Ivanukovich et al., 1990).

Таблица 1. Устойчивость образцов сорго (*Sorghum*) к обыкновенной злаковой тле

Table 1. Greenbug resistance in sorghum accessions

Номер по каталогу ВИР	Образец	Происхождение	Поврежденность тлей, балл	
			популяцией	тест-клоном
Зерновое				
822	<i>Sorghum</i> sp.	СССР	3, 5, 7, 8	9, 10
1149	<i>Sorghum</i> sp., ‘Ак-Джугара’	«	10	10
9972	<i>Sorghum</i> sp., ‘Саратовское 3С’	«	4, 8, 9, 10	4, 6
9993	<i>Sorghum caudatum</i> (Hack.) Stapf, ‘Early’	Венгрия	6, 8, 10	9, 10
10524	<i>Sorghum bicolor</i> (L.) Moench	Германия	2–4, 10	2, 3
105	<i>Sorghum</i> sp., wies-b	Уганда	1–5	1, 2
1239	<i>Sorghum</i> sp.	Китай	1, 2	1
1883	<i>Sorghum</i> sp., ‘Achi Furi’	Индия	4–8, 10	7, 8
6339	<i>Sorghum</i> sp.	Аргентина	2–4	3, 4
Сахарное				
3650	<i>Sorghum</i> sp.	Польша	1–3, 10	3, 4
533	<i>Sorghum sacharatum</i> (L.) Moench	Палестина	2–4	6, 7
Веничное				
476	<i>Sorghum technicum</i> (Körn.) Batt. & Trab.	СССР	2–8, 10	-
Дикое				
77	<i>Sorghum</i> sp.	Аргентина	1, 2	1, 2

Таблица 2. Расщепление по устойчивости к обыкновенной злаковой тле F₂ гибридов зернового сорго (*Sorghum*)Table 2. Segregation for resistance to greenbug in F₂ hybrids of grain sorghum

Комбинация скрещивания	Инвазионный материал	Соотношение фенотипов R:S*		χ^2	P
		фактическое	ожидаемое		
'А-83' × к-1239	популяция	227:60	13:3	0,876	0,25 – 0,50
			3:1	2,566	0,10 – 0,20
'Низкорослое 81с' × к-1239	популяция	248:58	13:3	0,008	0,90 – 0,95
'А-10598' × к-1251	популяция	213:44	13:3	0,448	0,50 – 0,75
'Сарваши с' × к-1251	клон	280:5	247:9	2,606	0,10 – 0,20

*R – устойчивые, S – восприимчивые фенотипы.

Наиболее высокой устойчивостью характеризовался образец зернового сорго из Китая к-1239. Нами были получены гибриды F₁ от скрещивания этого образца с неустойчивыми стерильными линиями 'Низкорослое 81с', 'А-83' и 'А-10598', которые изучили по устойчивости к краснодарской популяции тли. Кроме того, оценили поврежденность F₁ от скрещивания с восприимчивыми тестерами 9-ти других форм из

Китая, которые в экспериментах Е. Е. Радченко (Radchenko, 2000) также характеризовались высокой устойчивостью к краснодарской популяции насекомого и клонам, выделенным из нее.

При проведении учета (гибель материнской формы – 10 баллов) поврежденность растений девяти комбинаций F₁ и их отцовских форм не превышала 2-х баллов, следовательно, устойчивость образцов к-830, к-831, к-931, к-932, к-1238,

к-1239, к-1241, к-1251 и к-2588 полностью доминирует. Поврежденность гибридов с участием образца к-933 была несколько выше (2–4 балла), то есть наблюдали промежуточное доминирование признака.

Мы получили гибриды F_2 от скрещивания образцов к-1239 и к-1251 с восприимчивыми линиями, которые изучили по устойчивости к популяции тли. Кроме того, анализировали расщепление F_2 'Сарваши с' × к-1251 по отношению к клону, слабо повреждающему сорт 'Сарваши' (тестер генов *Sgr1* и *Sgr2*).

Соотношение фенотипов в F_2 удовлетворяет предположению о том, что изучаемые формы имеют по два гена устойчивости (доминантному и рецессивному), проявляющихся против популяции тли (табл. 2). Расщепление по четырем генам устойчивости в F_2 'Сарваши с' × к-1251 подкрепляет выводы о присутствии рецессивного гена устойчивости у образца к-1251, а также о различии генетического контроля устойчивости к тле у сорта 'Сарваши' и образца к-1251, сделанный на основании экспериментов с тест-клонами тли.

Выводы

Полевое и лабораторное изучение коллекционных образцов выявило 9 форм зернового, сахарного и дикого сорго (к-77, к-105, к-533, к-1239, к-1883, к-3650, к-6339, к-9972, к-10524), которые защищены аллелями генов устойчивости к обыкновенной злаковой тле, отличающимися от идентифицированных ранее аллелей генов *Sgr1* – *Sgr6* и *Sgr12*. Показан доминантный характер наследования устойчивости к вредителю у десяти образцов зернового сорго из Китая:

к-830, к-831, к-931, к-932, к-933, к-1238, к-1239, к-1241, к-1251 и к-2588. Образцы зернового сорго к-1239 и к-1251 имеют по два высокоэффективных гена устойчивости (доминантному и рецессивному), которые отличаются от аллелей эффективных генов *Sgr5* и *Sgr6*.

Благодарности: Работа выполнена в рамках государственного задания ВИР (бюджетный проект № 0662-2018-0019, АААА-А16-116040710361-8).

References/Литература

- Ivanyukovich L. K., Vinogradov Z. S., Andriyash N. V., Vakhnenko V. V. (1990) Catalogue of VIR world collection. Iss. 535. Sugar sorghum. Leningrad: VIR, 45 pp. [in Russian] (Иванюкович Л. К., Виноградов З. С., Андрияш Н. В., Вахненко В. В. Каталог мировой коллекции ВИР. Вып. 535. Сорго сахарное. Л.: ВИР, 1990. 45 с.).
- Krivchenko V. I., Vinogradov Z. S., Zhukova M. P., Purdik N. P., Jakshin G. V. (1988) Catalogue of VIR world collection. Iss. 476. Sorghum (evaluation for resistance to covered and loose smuts, greenbug). Leningrad: VIR, 55 p. [in Russian] (Кривченко В. И., Виноградов З. С., Жукова М. П., Пурдик Н. П., Якшин Г. В. Каталог мировой коллекции ВИР. Вып. 476. Сорго (оценка на устойчивость к покрытой и пыльной головне, злаковой тле). Л.: ВИР, 1988. 55 с.).
- Radchenko E. E. (2000) Identification of genes for resistance to greenbug in sorghum. Russ. J. Genetics. 36 (4): 408–417.
- Radchenko E. E. (2006) Inheritance of greenbug resistance in several forms of grain sorghum and sudangrass. Russ. J. Genetics, 42 (1): 55–59. DOI:10.1134/S1022795406010078
- Radchenko E. E. (2008) Cereal aphids In: The study of the genetic resources of cereal crops for resistance to harmful organisms. Moscow: Rosselchozacademia: 214–257 [in Russian] (Радченко Е. Е. Злаковые тли // Изучение генетических ресурсов зерновых культур по устойчивости к вредным организмам. Методическое пособие. М.: Россельхозакадемия, 2008. С. 214–257).
- Radchenko E. E., Zubov A. A. (2007) Genetic diversity of sorghum in greenbug resistance. Russ. Agric. Sci., 33 (4): 223–225. DOI:10.3103/S1068367407040039

Прозрачность финансовой деятельности:

авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов отсутствует

Для цитирования: Радченко Е.Е., Зубов А.А., Малиновская Е.В. Доноры устойчивости сорго к обыкновенной злаковой тле. Vavilovia. 2018, 1(1): 12-17. DOI: 10.30901/2658-3860-2018-1-12-17

How to cite this article: Radchenko E. E., Zubov A. A., Malinovskaya E. V. Donors of greenbug resistance in sorghum. Vavilovia. 2018, 1(1): 12-17. DOI: 10.30901/2658-3860-2018-1-12-17