

*На правах рукописи*

**ГУЛЬТЯЕВА ЕЛЕНА ИВАНОВНА**

**ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА  
ПОПУЛЯЦИЙ *Triticum aestivum* В РОССИИ  
И ЕЕ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПОД ВЛИЯНИЕМ  
РАСТЕНИЯ-ХОЗЯИНА**

**Шифр и наименование специальности  
03.02.12 - микология**

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертация на соискание ученой степени  
доктора биологических наук

Пушкин-Санкт-Петербург, 2018

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений» (ФГБНУ ВИЗР), г. Санкт-Петербург

**Научный консультант:** **Левитин Марк Михайлович**  
доктор биологических наук, профессор,  
академик РАН, заслуженный деятель науки РФ,  
главный научный сотрудник лаборатории  
микологии и фитопатологии ФГБНУ  
«Всероссийский НИИ защиты растений»

**Официальные оппоненты:** **Новожилов Юрий Капитонович**  
доктор биологических наук, профессор,  
главный научный сотрудник, и.о. заведующего  
лабораторией систематики и географии грибов  
ФГБУН «Ботанический институт  
им. В.Л. Комарова РАН», г. Санкт-Петербург

**Салина Елена Артемовна**  
доктор биологических наук, профессор,  
заведующий лабораторией молекулярной генетики  
и цитогенетики растений ФГБУН «Институт  
цитологии и генетики Сибирского отделения  
РАН», г. Новосибирск

**Ткаченко Олег Борисович**  
доктор биологических наук, главный научный  
сотрудник, заведующий лабораторией защиты  
растений ФГБУН Главный ботанический сад им.  
Н.В. Цицина РАН, г. Москва

**Ведущее учреждение:** ФГБОУ ВО «Московский государственный  
университет имени М.В. Ломоносова»

Защита диссертации состоится 21 февраля 2019 г. в 10 часов на заседании диссертационного совета Д 006.015.01 на базе Всероссийского научно-исследовательского института защиты растений по адресу: 196608, Санкт-Петербург-Пушкин, шоссе Подбельского, д. 3, факс: (812) 470-51-10; e-mail: info@vizr.spb.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ВИЗР и на сайте vizr.spb.ru Всероссийского научно-исследовательского института защиты растений

Автореферат разослан «   » \_\_\_\_\_ 2018 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
кандидат биологических наук

Наседкина Галина Анатольевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность.** Бурая ржавчина (возбудитель гриб *Puccinia triticina* Erikss.) – распространенное и значимое заболевание пшеницы в России (Санин, 2010). Вредоносность ее варьирует по годам и регионам. Использование устойчивых сортов – экологически безопасный способ защиты пшеницы от болезни. Управление генетической защитой невозможно без проведения популяционных исследований паразита.

Среди фитопатогенов *P. triticina* характеризуется длительным периодом популяционных исследований. Мониторинг расового состава популяций в б. СССР проводился с 1930 г. (Рашевская, Барменков, 1935; Барменков, 1938). В 1950-1970 годы отмечено несколько существенных изменений расового состава патогена (Шопина, 1959, 1969; Федорова, 1966; Сорокина, Соломатин, 1975; Воронкова, 1975; Санин, 1975). Все они были обусловлены сменой сортимента пшеницы. В 1980-2000 гг. на территории СНГ зафиксировано существование нескольких географических популяций патогена: европейской, азиатской и кавказской (Аманов, 1984; Михайлова, Васильев, 1985; Михайлова, Тырышкин, 1989; Сорокина и др., 1990; Михайлова, 1995, 1996; Kovalenko et al., 2010; Коваленко и др., 2012). Поволжье было выделено – как пограничная зона, где наблюдается совмещение азиатской и европейской популяций гриба.

До недавнего времени вирулентность являлась единственным признаком для характеристики популяций *P. triticina*. Молекулярные маркеры начали применять с середины 1990 гг. (Kolmer et al., 1995; Kolmer, Liu, 2000; Park et al. 2000; Duan et al., 2003; Szabo, Kolmer, 2007). С их использованием изучены популяции *P. triticina* на Северо- и Южноамериканском континентах, в Западной Европе, в странах Ближнего Востока, Центральной Азии и Кавказа (Kolmer, Ordoñez, 2007; Ordoñez et al., 2010; Kolmer et al., 2011, 2013). Полиморфизм микросателлитных локусов у российских популяций *P. triticina*, собранных в европейских и западноазиатских регионах в 2006-2010 гг., был охарактеризован в лаборатории болезней зерновых культур (Cereal Diseases Laboratory) в США (Kolmer et al., 2015). В этих исследованиях дифференциация популяций на группы по географическому происхождению не выявлена. Показано существование единой популяции патогена, в которой определено две группы изолятов, распространенных по всей территории РФ. В связи с этим представлялось актуальным уточнить молекулярно-генетическую структуру современных популяций *P. triticina*.

Наряду с мягкой пшеницей, возбудитель бурой ржавчины поражает другие культурные и дикие злаки из родов *Triticum*, *Aegilops*, *Elymus*, *Agropyron* и др. Показано, что коэволюция *P. triticina* и его растений-хозяев в процессе доместикиции пшениц предопределила генетическую дивергенцию патогена (Liu et al., 2014). Определены существенные различия между изолятами, поражающими *Ae. speltoides*, твердую и мягкую пшеницу (Ordoñez, Kolmer, 2007; Liu et al., 2014). Для популяций *P. triticina* на других видах-хозяевах такие исследования не проводились.

**Степень разработанности темы.** Анализ литературы, посвященной данной проблеме, указывает на высокую актуальность популяционно-генетических исследований *P. triticina*. Это обусловлено тем, что возбудитель бурой ржавчины пшеницы характеризуется высоким эволюционным потенциалом и достаточно быстро преодолевает генетическую устойчивость растений. Ежегодный анализ популяций патогена позволяет оценить динамику их изменчивости,

охарактеризовать эффективность генов устойчивости и выявить патотипы с новым спектром вирулентности. В последние десятилетия наблюдается очевидный прогресс в селекции новых сортов мягкой пшеницы в России (Тюнин, Шрейдер, 2010; Беспалова и др., 2017). В свою очередь это требует более внимательного отношения к возможным изменениям в структуре популяций возбудителя.

**Цель работы** – охарактеризовать генетическую структуру популяций возбудителя бурой ржавчины на территории России и оценить влияние растений-хозяев на ее изменчивость.

Для достижения данной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Изучить структуру популяций возбудителя бурой ржавчины на мягкой пшенице по признаку вирулентности.
2. Изучить полиморфизм популяций возбудителя бурой ржавчины на мягкой пшенице по молекулярным маркерам (RAPD, УП-ПЦР, SSR).
3. Охарактеризовать молекулярно-генетическую структуру *P. triticina* на видах-родичах пшеницы.
4. Оценить генетическое разнообразие современных российских сортов мягкой пшеницы по устойчивости к возбудителю бурой ржавчины и определить их влияние на изменчивость популяций патогена.
5. Охарактеризовать микроэволюционные процессы в популяциях *P. triticina* в 2001-2017 гг.

### **Научная новизна исследований**

С привлечением анализа вирулентности и молекулярных маркеров проведено исследование полиморфизма популяций *P. triticina* при развитии на мягкой пшенице и видах-родичах. Результаты молекулярного анализа в комплексе с исследованием вирулентности позволили выявить особенности микроэволюционных процессов в популяциях фитопатогенного гриба *P. triticina*, паразитирующего на мягкой пшенице, в частности, охарактеризовать структуру и механизмы изменчивости, уточнить ареалы популяций и миграцию спор.

Впервые охарактеризован молекулярно-генетический полиморфизм дагестанских изолятов *P. triticina* на видах-родичах пшеницы. Определена существенная внутривидовая дифференциация патогена на растениях разной ploидности. Подтверждено, что изменчивость, основанная на действии отбора против определенных аллельных комбинаций, является основополагающей при формировании состава популяций гриба. Эти изменения затрагивают не только генетические механизмы вирулентности патогена, но и полиморфизм микросателлитных локусов.

Впервые в России для оценки филогенетического родства между изолятами, полученными с разных видов-хозяев патогена, использованы SNP-маркеры. Оптимизированы методические подходы для изучения полиморфизма популяций *P. triticina* по RAPD, УП ПРЦ, SSR и SNP-маркерам. Показана перспективность использования разных типов маркеров для популяционных исследований возбудителя бурой ржавчины.

Исследования сортов мягкой пшеницы, возделываемых в РФ, по устойчивости к возбудителю бурой ржавчины и генетическому контролю этого признака позволили охарактеризовать влияние сорта на изменчивость популяций патогена. Оценена представленность сортов пшеницы с разными типами устойчивости к

бурой ржавчине в регионах РФ. Определена эффективность ювенильных *Lr*-генов, а также выявлены эффективные сочетания *Lr*-генов, перспективные для использования в селекции. В фазе взрослых растений изучена многолетняя динамика эффективности устойчивости 56 *TcLr*-линий в условиях Северо-Запада.

В результате комплексных многолетних исследований (2001–2017 гг.) охарактеризованы микроэволюционные процессы в популяциях возбудителя бурой ржавчины на территории РФ.

### **Теоретическое значение работы**

Результаты исследований представляют ценность как для понимания внутривидовой структуры и микроэволюции биотрофного гриба *P. triticina*, так и для селекции злаков на устойчивость к бурой ржавчине. Использование молекулярных маркеров позволило получить новые сведения о структуре популяций данного патогена и уточнить характер распределения их в пространстве.

Данная работа является продолжением многолетнего популяционного анализа *P. triticina*, проводимого в ВИЗР. Сравнение результатов исследований 2001–2017 гг. с полученными ранее позволили охарактеризовать популяции *P. triticina* по признаку вирулентности в ретроспективе (за 40-летний период). Перманентный анализ вирулентности в течение длительного периода выявил дискретные изменения в структуре региональных популяций *P. triticina*. Использование молекулярных подходов существенно дополнило результаты анализа вирулентности.

Изучение районированных сортов пшеницы (по устойчивости к бурой ржавчине и генетическому разнообразию) позволило уточнить их влияние на изменчивость популяций патогена. Оценена представленность в регионах РФ устойчивых сортов, характеризующихся разными типами устойчивости к бурой ржавчине. Охарактеризовано распространение *Lr*-генов среди сортов мягкой пшеницы, включенных в Государственный реестр селекционных достижений. Проведена валидация молекулярных маркеров *Lr*-генов и отобраны наиболее информативные из них для маркер вспомогательной селекции (MAS).

### **Практическая значимость работы**

Результаты исследований микроэволюционных процессов в популяциях *P. triticina* и представленности *Lr*-генов в сортах пшеницы являются основанием для рационального использования доноров устойчивости и сортов, полученных на их основе, в пространстве и во времени.

Эффективные *Lr*-гены и сочетания генов, способствующие повышению уровня устойчивости у сортов пшеницы, могут быть рекомендованы для практической селекции. Их успешному применению способствует наличие высокоинформативных молекулярных маркеров. Даны рекомендации по использованию молекулярных маркеров, выполненные в виде методического руководства. Эти исследования автора отмечены двумя дипломами РАСХН за лучшую завершённую научную разработку: 1) «Молекулярные подходы в идентификации генов устойчивости к бурой ржавчине у российских сортов пшеницы» (2009 г.) и 2) «Листовые болезни пшеницы, методы изучения популяций их возбудителей и идентификация генов устойчивости к желтой пятнистости и бурой ржавчине» (2012 г.).

С использованием молекулярных маркеров проведен скрининг обширного селекционного материала на наличие *Lr*-генов, в результате которого отобраны

перспективные генотипы пшеницы, несущие эффективные сочетания *Lr*-генов. По результатам этих исследований диссертант включен в состав авторов сортов яровой пшеницы Силач, Памяти Одинцовой, Челябин (оригинатор ЧНИИСХ) и в состав участников селекции яровых сортов Сигма, Сигма 2, Омская 41, Омская 42 (оригинатор Омский АНЦ, ранее СибНИИСХ).

### **Методология и методы исследований**

Методология исследований базируется на созданном в ВИЗР М.М. Левитиным и Л.А. Михайловой направлении изучения изменчивости популяций фитопатогенных грибов. Методически работа дополнена использованием нового инструментария – различных типов молекулярных маркеров.

### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Сравнительный анализ фенотипического состава *P. triticina* по признаку вирулентности выявил изменения структуры региональных популяций в России в 2010-2017 гг. по сравнению с 2001-2009 гг. Ареалы азиатской и кавказской популяций характеризуются стабильностью, а европейской – претерпели изменения.

2. Существование нескольких групп популяций *P. triticina* (европейской, азиатской и кавказской) впервые подтверждено микросателлитным анализом. Между кавказской и европейской популяциями *P. triticina* выявлен интенсивный генный поток, а между азиатской и европейской – слабый.

3. Внутривидовая структура дагестанской популяции *P. triticina* на видах *Triticum* и *Aegilops* разной ploидности различается по вирулентности и микросателлитным локусам. В составе дагестанской популяции имеется несколько генетически контрастных групп изолятов. Изоляты патогена на тетраплоидных видах отличаются по микросателлитным локусам от изолятов на гексаплоидных и диплоидных видах пшеницы и эгилопсов.

4. Анализ устойчивости и идентификация *Lr*-генов у сортов яровой и озимой мягкой пшеницы, включенных в Государственный реестр селекционных достижений РФ, показали увеличение в районировании доли генетически защищенных устойчивых к бурой ржавчине сортов в 2010-2017 гг. по сравнению с 1995-2009 гг. В связи с интенсивным генным потоком между европейской и кавказской популяциями использование одних и тех же генов в этих регионах нецелесообразно.

5. На основании комплексного подхода с использованием фитопатологических и молекулярных методов, установлены изменения в популяциях *P. triticina* за многолетний период (2001-2017 гг.). Изменчивость, обусловленная обновлением сортимента пшеницы и увеличением в районировании генетически защищенных сортов, явилась основным фактором микроэволюции популяций *P. triticina* на территории РФ.

### **Степень достоверности и апробация результатов работы**

Работа проводилась в лаборатории микологии и фитопатологии ФГБНУ Всероссийского НИИ защиты растений. Популяционные исследования патогена по признаку вирулентности, изучение устойчивости сортов пшеницы и идентификация *Lr*-генов выполнены по Гос. заданиям ВИЗР. RAPD-анализ популяций *P. triticina* на мягкой пшенице проведен в рамках проекта РФФИ №07-04-01455а, SSR-анализ – в рамках проекта РФФИ №14-04-00464а. Изучение внутривидовой структуры *P. triticina* на видах-родичах выполнено по проекту РФФИ №14-26-00067.

Достоверность результатов исследований подтверждается статистической обработкой полученных данных, широким обсуждением их на научных мероприятиях и в печатных работах.

Основные результаты работы были представлены на **16 российских конференциях** (Первая Всероссийская конференция по иммунитету растений к болезням и вредителям (Санкт-Петербург, 2002 г.), Международная научно-практическая конференция «Биологическая защита растений – основа стабилизации агроэкосистем» (Краснодар, 2004 г.), Второй Всероссийский съезд по защите растений (Санкт-Петербург, 2002 г.), II международный конгресс "Зерно и хлеб России" (Санкт-Петербург, 2006 г.), Вторая Всероссийская конференция «Современные проблемы иммунитета растений к вредным организмам» (Санкт-Петербург, 2008 г.), IV международный конгресс «Зерно и хлеб России» (Санкт-Петербург, 2008 г.), Третья Всероссийская и международная конференция «Современные проблемы иммунитета растений к вредным организмам» (Посвященная 125-летию со дня рождения Н.И. Вавилова) (Санкт-Петербург, 2012), III Вавиловская международная конференция «Идеи Н.И. Вавилова в современном мире» (Санкт-Петербург, 2012 г.), «Проблемы микологии и фитопатологии в XXI веке» (Санкт-Петербург, 2013 г.), Третий Всероссийский съезд по защите растений «Фитосанитарная оптимизация агроэкосистем» (Санкт-Петербург, 2013 г.), Международная научная конференция «Генетические ресурсы растений - основа продовольственной безопасности и повышения качества жизни», посвященная 120-летию основания Всероссийского научно-исследовательского института растениеводства им. Н. И. Вавилова (Санкт-Петербург, 2014 г.), IV Международная конференции «Современные проблемы иммунитета растений к вредным организмам» (Санкт-Петербург, 2016 г.), 4-й Съезд микологов России (Москва, 2017 г.), IV Вавиловская международная конференция «Идеи Н.И. Вавилова в современном мире» (Санкт-Петербург, 2017 г.), на 11,12,13 Международных совещаниях Казахстанско-Сибирской сети по улучшению пшеницы (КАСИБ) (Новосибирск, 2014 г.; Астана, 2016 г.; Омск, 2018 г) и на **9 зарубежных конференциях** (International conference "Sustainable systems of cereal crop protection against fungal diseases as the way of reduction of toxin occurrence in food webs" (Kromeriz, Czech Republic, 2001), XV Congress of European Mycologists (St. Petersburg, 2007 г.), 12 International Cereal Rusts and Powdery Mildews Conference (Antalya, Turkey, 2009), 8th International wheat conference (St. Petersburg, 2010), Borlaug Global Rust Initiative 2010 Technical Workshop (St. Petersburg, 2010), Международная конференция по биологии и биотехнологии растений (Алматы, Казахстан, 2014 г.), 14th International Cereal Rusts and Powdery Mildews Conference (Helsingor, Denmark, 2015), Международная научно-практическая конференция, посвященная 60-летию НПО зернового хозяйства им. А.И. Бараева «Земледелие и селекция сельскохозяйственных растений на современном этапе» (Казахстан. Астана-Шортанды, 2016 г.), 15th International Cereal Rusts and Powdery Mildews Conference (Skukusa, South Africa, 2018).

**Личный вклад автора.** Диссертационная работа является результатом многолетних исследований (2001-2017 гг.), выполненных лично автором и при проведении работ под его руководством. Автор принимал участие на всех этапах работы, ему принадлежат формулирование проблемы, постановка цели и задач, планирование и проведение экспериментов, интерпретация полученных данных.

**Публикации по теме диссертации.** По материалам диссертации опубликовано 111 научных работ, из них 51– в журналах, входящих в перечень международных реферативных баз данных и список ВАК, 17 – статьи в других журналах, монографии и главы в коллективных монографиях, 43 – материалы конференций.

**Структура и объем диссертации.** Работа изложена на 312 страницах, содержит 33 рисунка и 52 таблицы, состоит из введения, обзора литературы, 7 разделов экспериментального материала, содержащих описание объектов и методов исследования, результатов и их обсуждения, заключения, списка сокращений и 3 приложений. Список цитированной литературы включает 453 источника, в том числе 231 иностранную работу.

**Благодарности.** Выражаю искреннюю благодарность моему научному консультанту академику М.М. Левитину, за всестороннюю помощь при подготовке диссертации. Особую благодарность выражаю Л.А. Михайловой и И.Г. Одинцовой, которых, к сожалению, уже нет с нами. Они передали мне свои знания и интерес к изучаемому объекту. Глубокая признательность всему коллективу лаборатории микологии и фитопатологии ВИЗР, сотрудникам лаборатории иммунитета растений к болезням ВИЗР, руководителю отдела генетики ВИР д.б.н. Е.Е. Радченко, уч. секретарю ВИЗР Г.А. Наседкиной. Большое спасибо проф. Е. Косману (Institute for Cereal Crops Improvement, Tel Aviv University) за огромную помощь в статистической обработке данных.

Автор выражает глубокую признательность младшему научному сотруднику лаборатории микологии и фитопатологии ВИЗР Е.Л. Шайдаюк и студентам М.К. Аристовой, А.И. Игнатъевой, И.А. Канюке, Г.В. Стойко, Л.С. Чистому, Д.Р. Яковлевой, С.С. Демидову, принимавшим участие на разных этапах работы.

Автор выражает глубокую благодарность всем коллегам из ВИРа, НИЦЗ им. П.П. Лукьяненко, ЧНИИСХ, ОмГАУ, Омского АНЦ, Самарского НИИСХ, НИИСХ ЮВ, ИЦиГ, СибНИИРС, ВНИИБЗР, АНЦ «Донской», ФБНУ ФАНЦА, а также сотрудникам Россельхозцентров за предоставление сортов пшеницы и образцов популяций возбудителя бурой ржавчины.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **ВВЕДЕНИЕ**

Во введении обоснована актуальность темы. Представлены цель и задачи исследования, основные положения, выносимые на защиту, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы.

### **Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**

В обзоре представлены основные достижения в популяционно-генетических исследованиях возбудителя бурой ржавчины пшеницы в России и за рубежом. Описаны биологические особенности *P. triticina*, проанализирована история изучения патогена по вирулентности и ДНК-маркерам, обсуждены преимущества и недостатки различных методических подходов для изучения структуры популяций.

### **Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

**2.2. Материал исследований.** Инфекционный материал с мягкой пшеницы был собран в 9 регионах РФ (Северо-Западный, Центральный, Центральное-Черноземный, Нижневолжский, Средневолжский, Волго-Вятский, Уральский, Западно-Сибирский, Северокавказский) в 2001-2017 годах; с видов *Triticum* и



*Aegilops* – на коллекционном посеве Дагестанской опытной станции ВИР (Дербент) в 2014 и в 2017 годах и на экспериментальных полях ИЦиГ (Новосибирск) и НПЦ зернового хозяйства им. А.И. Бараева (Северный Казахстан, Шортанды) в 2014 году. Изучение устойчивости к бурой ржавчине и идентификацию *Lr*-генов провели у 294 сортов озимой и 213 яровой мягкой пшеницы, включенных в Государственный реестр селекционных достижений.

## **2.2 Методы изучения структуры популяций *Puccinia triticina***

**2.2.1 Анализ вирулентности.** Выделение и размножение монопустульных изолятов для анализа вирулентности и изучения ДНК-полиморфизма проводили по методике лабораторного культивирования гриба на отрезках листьев (Михайлова и др., 2000). Этот же метод использовали для анализа вирулентности до 2016 года. В 2016 и 2017 годах тестирование изолятов проводили с использованием 10–14-дневных проростков линий-дифференциаторов, выращиваемых в сосудах с почвой.

Для определения фенотипического состава патогена использовали 20 почти изогенных линий Thatcher (Tc) с генами *Lr*. Для обозначения фенотипов вирулентности Tc*Lr*-линии были разделены на пять групп (по четыре линии в каждой): I — *Lr1*, *Lr2a*, *Lr2c*, *Lr3a*; II — *Lr9*, *Lr16*, *Lr24*, *Lr26*; III — *Lr3ka*, *Lr11*, *Lr17*, *Lr30*, IV — *Lr2b*, *Lr3bg*, *Lr14a*, *Lr14b*; V — *Lr15*, *Lr18*, *Lr19*, *Lr20*. Первые три группы были аналогичны международному набору, предложенному D. Long и J. Kolmer (1989), другие две включали линии, эффективные для дифференциации российских популяций *P. triticina*.

Для изучения структуры популяций патогена по частотам вирулентности и мониторинга вирулентности в полевых условиях Северо-Запада использованы линии Thatcher и сорта пшеницы с 56-ю *Lr*-генами.

**2.2.2 Анализ ДНК полиморфизма популяций *Puccinia triticina*.** Выделение ДНК из спорового материала гриба для проведения RAPD и SSR-анализов выполнено по методике, описанной A.F. Justesen с соавторами (2002). Для деструкции спор использовали гомогенизатор FastPrep®-24. В молекулярных исследованиях использовали шесть RAPD-праймеров: 450, 490, 538, 280.02, 270.09, 480.04 (Kolmer et al., 1995; Park et al., 2000), один УП-ПЦП праймер: AS4 (Мироненко, Булат, 2003) и 18 SSR-маркеров: PtSSR13, PtSSR50, PtSSR55, PtSSR61, PtSSR68, PtSSR76, PtSSR91, PtSSR92, PtSSR151A, PtSSR152, PtSSR158, PtSSR161, PtSSR164, PtSSR173, PtSSR186, RB8, RB26, RB35) (Duan et al., 2003; Szabo, Kolmer, 2007). Эти маркеры отобраны как наиболее результативные для наших исследований. ПЦП проводили с использованием амплификатора C1000 BioRad по протоколам, представленным авторами праймеров. При необходимости их модифицировали. Для изучения олигонуклеотидного полиморфизма *P. triticina* на видах-родичах пшеницы использовали маркеры трех локусов – ctg1, ctg5, ctg84 (Liu et al., 2014). Результаты анализа нуклеотидной последовательности для российских изолятов сравнивали с представленными в Генбанке для изолятов с твердой и мягкой пшеницы из других стран. SSR и SNP-анализы проводили с использованием генетического анализатора ABI Prism 3500.

**2.2.3 Статистическая обработка результатов популяционных исследований.** Буквенный код фенотипов вирулентности (рас), частоты вирулентности и фенотипов, индексы генетических дистанций определяли с использованием пакета программ VirulenceAnalysisTool (VAT) (Kosman et al., 2008). Для характеристики внутривнутрипопуляционного разнообразия *P. triticina* по

вирулентности использовали индексы генетических дистанций: Нея (Nei Diversity, Hs) (разнообразие по частотам аллелей), Шеннона (Sh) (разнообразие по фенотипам) и Космана (Kosman diversity within (KW) (комплексное разнообразие по частотам аллелей и фенотипическому составу) (Kosman et al., 2008). Для оценки межпопуляционных различий по вирулентности использовали индекс Нея (Nei distance, N), характеризующий генетическое расстояние по частотам аллелей (Nei, 1972), индекс Роджерса (Rogers distance, R) – по фенотипическому составу, индекс Космана (Kosman distance KBm) – по частотам вирулентности и фенотипическому составу (Kosman et al., 2008). Дополнительно использовали индекс генетических дистанций Fst, широко применяемый в популяционных исследованиях.

Статистическая обработка результатов SSR-анализа выполнена с помощью пакета программ GenAlEx 6.5 (Peakall, Smouse, 2012). Для характеристики внутрипопуляционной генетической изменчивости по микросателлитным локусам использовали общепринятые в генетико-популяционных исследованиях показатели: среднее число аллелей (Na), число эффективных аллелей (Ne), ожидаемая (He) и наблюдаемая (Ho) гетерозиготность, индекс фиксации (F), индекс Шеннона (I). Оценку различий между выборками изолятов проводили с использованием индексов Нея (Nei genetic distance, N), Fst и Rst, которые были рассчитаны с помощью алгоритма AMOVA. Дополнительно для оценки генетических расстояний между популяциями *P. triticina* в RAPD- и SSR-анализах использовали индекс Космана (Kosman distance KBm). Группировка популяций в кластеры была выполнена с использованием алгоритма UPGMA (метод нахождения ближайшего соседа) (Evanno et al., 2005) в программе NTSYSpc 2.2 и с помощью опции Principal Coordinates (PCoA) в пакете программ GenAlEx.

### **2.3 Изучение влияния сортов пшеницы на изменчивость популяций *Puccinia triticina***

#### **2.3.1 Фитопатологические методы оценки устойчивости пшеницы.**

Изучение сортов пшеницы по устойчивости к бурой ржавчине проводили в фазы проростков и взрослых растений. Для оценки устойчивости в фазе проростков и проведения фитопатологического теста использовали метод заражения отрезков листьев и 7-10-дневных растений. Для инокуляции использовали популяции бурой ржавчины широкого географического происхождения и клоны, маркированные вирулентностью к *Lr9*, *Lr19* и *Lr26*. Учет типа реакции проводили на 8-10 день после заражения по шкале E.V. Mains и H. S. Jackson (1926). Растения, поражение которых оценивалось баллами 0-2, относили к устойчивым, 3-4 – к восприимчивым. Устойчивость взрослых растений изучали на опытном поле ВИР в 2007–2017 гг. (Санкт-Петербург-Пушкин) на искусственном инфекционном фоне. Пораженность бурой ржавчиной оценивали по шкале R.F. Peterson (1948).

**2.3.2 Использование ДНК-маркеров для идентификации *Lr*-генов у сортов пшеницы.** ДНК выделяли из листьев 7-10-дневных проростков по методике, описанной Д.Б. Дороховым и Э. Клоке (1997). Перед применением каждого из маркеров для скрининга пшеницы была проведена их валидация. Она включала оптимизацию условий проведения ПЦР и проверку специфичности маркера с использованием тестерных *Lr*-линий (50 линий) и набора положительных и отрицательных контролей. Для идентификации гена *Lr6Agi* были подобраны новые маркеры (j09/1/Ф2 и j09/1/4a).

**2.3.4 Мониторинг эффективности устойчивости TcLr-линий в условиях Северо-Запада.** Мониторинг вирулентности патогена в полевых условиях Северо-Запада проводили с использованием 56 TcLr-линий. Исследования проводили на опытном поле Пушкинских лабораторий ВИР на искусственном инфекционном фоне. Для учета использовали 2 показателя: пораженность (шкала R.F. Peterson, %) и тип реакции (шкала E.V. Mains, H.S. Jackson, балл) (Методы..., 1988).

### **Глава 3. СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИЙ ВОЗБУДИТЕЛЯ БУРОЙ РЖАВЧИНЫ НА МЯГКОЙ ПШЕНИЦЕ В РОССИИ ПО ФЕНОТИПИЧЕСКОМУ СОСТАВУ**

В понятие "структуры" популяции *P. triticina* мы вкладываем генетическое разнообразие внутри и между образцами популяций патогена, выражаемое в частотах аллелей или генотипов (фенотипов), определенных с использованием молекулярных маркеров или признака вирулентности.

#### **3.1 Динамика фенотипического состава *Puccinia triticina* в центрально-европейских регионах России**

Изучение фенотипического (расового) состава *P. triticina* проводили в Северо-Западном (СЗ), Центральном (Ц) и Центральном-Черноземном регионах (ЦЧР). Внутрипопуляционное разнообразие варьировало от слабого до высокого (СЗ: Sh=0,07-0,86; Ц: Sh=0-0,68; ЦЧР: Sh=0,33-0,71). Определено доминирование общих фенотипов гриба во всех региональных популяциях. Наряду с ними ежегодно выявляли высокое число оригинальных фенотипов, которые не закреплялись в популяциях и не отмечались в последующий период. Их представленность была выше при анализе инфекционного материала, собранного на ГСУ и коллекционных полях НИИ, чем на производственных посевах. Фенотипы группы F-, авирулентные к *Lr1* и *Lr2a*, доминировали до 2010 г. В последующий период им на смену пришли фенотипы групп M- и P-, вирулентные к *Lr1* и авирулентные к *Lr2a*. Ежегодно выявляли фенотипы группы T-; но частота их была ниже, чем фенотипов групп F-, M- и P-. В образцах *P. triticina* из ЦЧР в отдельные годы отмечали фенотипы, вирулентные к *Lr19* (TGTTT, TGTTT и др.). Индекс Роджерса (R=0,49) указывал на умеренные изменения в составе центрально-европейских образцов популяций в 2010-2017 гг. по сравнению с предыдущим десятилетием.

#### **3.2 Динамика фенотипического состава *Puccinia triticina* в Поволжье**

В Поволжье мониторинг фенотипического состава *P. triticina* проводили в Нижневолжском (НВ), Средневолжском (СВ) и Волго-Вятском (ВВ) регионах. Разнообразие волжских популяций существенно варьировало по годам (НВ: Sh=0,25-0,67; СВ: Sh=0-0,77; ВВ: Sh=0-0,64). Высокое число общих фенотипов наблюдали во все годы исследований. Фенотипы группы F- отмечали до 2010 г., а фенотипы групп P- и M- – в последующий период. Представленность фенотипов группы T- в Поволжье была выше, чем в центрально-европейских регионах. Они встречались в приблизительно равном соотношении с фенотипами групп F-, P-, M-. Широкое распространение имели фенотипы RGTTT, TGTTT, TGTTT и другие, вирулентные к *Lr19*. Индекс Роджерса указывал на умеренные изменения в составе волжских популяций (R=0,48).

#### **3.3 Динамика фенотипического состава *Puccinia triticina* в Северо-Кавказском регионе**

Образцы северокавказских популяций *P. triticina* были собраны в Ростовской области, Краснодарском и Ставропольском краях (СК) и Дагестане (Д). Поскольку

ранее были показаны различия в составе популяций СК и Д (Михайлова, 1996), в своей работе мы также изучали их отдельно. Разнообразие северокавказских популяций *P. triticina* варьировало по годам исследований (СК:  $Sh=0.29-0.78$  и Д:  $Sh=0,22-0,87$ ). Фенотипы группы F- доминировали до 2010 гг., в последующий период на смену им пришли фенотипы группы P-. Фенотипы группы T- регулярно выявляли в обеих популяциях (СК и Д), но частота их была существенно ниже, чем фенотипов групп F-, P-, M-. Фенотипы, вирулентные к *Lr19* (TGTTT и др.), отмечали единично в популяции СК. Индекс Роджерса указывал на умеренные изменения в составе популяции СК ( $R=0,6$ ) и более существенные – в дагестанской ( $R=0,92$ ).

### **3.4 Динамика фенотипического состава *Puccinia triticina* в западноазиатских регионах РФ**

Образцы популяций *P. triticina* были собраны в Уральском (У) и Западно-Сибирском (ЗС) регионах. Разнообразие их существенно варьировало по годам (У:  $Sh=0,05-0,68$ ; и ЗС:  $Sh=0-0,61$ ). Фенотипы группы T- имели высокие частоты в обеих популяциях. До 2010 гг. отмечали фенотипы группы F-, которые в последующий период заместили фенотипы групп P- и M-. Представленность их была низкой во все годы исследований. В 2010-2017 гг. отмечается нарастание фенотипов TLT-, TQP-, TQT-, вирулентных к *Lr9*, и ранее отсутствовавших в азиатских популяциях. Фенотипы RGTТТ, TGTTT и другие, вирулентные к *Lr19*, были более распространены в 2001-2010 гг. Значение индекса Роджерса указывало на высокие изменения фенотипического состава уральской популяции в 2010 гг. ( $R=0,71$ ) и умеренные – в западносибирской ( $R=0,44$ ).

### **3.5 Изменчивость фенотипического состава *Puccinia triticina* в России в 2001–2017 гг.**

Всего в 2001–2017 гг. изучено 4927 монопустульных изолятов гриба. С использованием 20 Tc*Lr*-линий определено 329 фенотипов, среди которых 105 были представлены в двух и более регионах или в одном регионе в течение нескольких лет, а остальные были оригинальными и отмечались единично. Ежегодно в анализе наблюдали фенотипы групп ТНТ- и TGT-. Частоты их существенно варьировали по регионам. В Западной Сибири и на Урале они были значительно выше, чем на Северном Кавказе и в центрально-европейской части России. Во всех региональных популяциях отмечены сходные тенденции изменчивости, а также замена фенотипов группы F- (авирулентность к *Lr1* и *Lr2a*) в 2010 годах фенотипами групп P- и M- (вирулентность к *Lr1*, авирулентность к *Lr2a*) (табл. 1). Более высокие частоты этих фенотипов наблюдали в северокавказских и центрально-европейских популяциях. Фенотипы FGTTT, TGTTS, TGTTT и другие, вирулентные к *Lr19*, отмечали во всех популяциях, кроме дагестанской. Их встречаемость была выше в Поволжье, на Урале и в ЦЧР. Начиная с 2010 г., в уральских и западносибирских популяциях наблюдается появление и нарастание фенотипов TL-, TQ-, вирулентных к *Lr9* (табл. 1). В европейской части России аналогичные фенотипы единично зарегистрированы в середине 2010 годов (в Поволжье и ЦЧР).

Согласно индексам Роджерса и Fst, дагестанские и азиатские (западносибирские и уральские) образцы популяций существенно отличались от всех европейских, которые характеризовались разной степенью сходства между собой (рис. 1).

Таблица 1. Частоты фенотипов *Puccinia triticina* в РФ (%)

Фенотип	Авирулентность к линиям Thatcher с генами <i>Lr</i>	2001-2009					2010-2017				
		Д	СК	Е	В	А	Д	СК	Е	В	А
FGTKH	1,2a,2b,9,15,19,24,26	0	0,4	0,1	0,2	0,2	2,7	0	0	0,8	0
FGTKR	1,2a,2b,9,19,24,26	0	2,2	0,8	1,1	0,2	0	0	0	0	0,2
FGTTG	1,2a,15,19,20,24,26	1,3	0	0,2	0	0	9,5	0	0	2,5	0
FGTTH	1,2a,15,19,24,26	0	0	2,9	1,4	0	0	0	0,8	0	0
FGTTQ	1,2a,15,19,20,24,26	0	0,4	2,9	3,3	0	0	0	0	0	0
FGTTR	1,2a,19,24,26	5,3	13	5,1	7,3	0,9	0	0	0	0	0
FHTKG	1,2a,2b,9,15,19,20,24	0	0,4	0,2	0	0	2,7	3,3	0	2,2	0
FHTKH	1,2a,2b,9,15,19, 24	3,9	0,9	0,2	0	0	2,7	0	0	0,6	0
FHTKR	1,2a,2b,9,19, 24	13,2	2,2	0,9	0,8	0	0	0	0	0	0
FHTTG	1,2a,9,15,19,20,24	1,3	1,3	0,9	0	0	4,1	3,3	0,2	3,9	0
FHTTH	1,2a,9,15,19, 24	10,5	3,5	0,3	0	0	0	0	0	0	0
FHTTQ	1,2a,9,15,19,20,24	7,9	2,2	0,3	0	0,3	0	0	0	0	0
FHTTR	1,2a,9,19, 24	2,1	7,4	1,4	0,6	1	0	0	0	0	0
FJTTR	1,2a,9,19,26	0	0,9	0,1	0	0,2	0	0	0	0	0
FGTTS	1,2a,9,15,20,24,26	0	0,4	0,1	0,2	0,2	0	0	0	0,8	0
FGTKS	1,2a,2b,9,15,20,24,26	0	0,4	0,1	0,2	0,2	0	0	0	0	0
FGTKT	1,2a,2b,9,15,24,26	0	0,9	0	0,5	0	0	0	0	0	0
FGTTT	1,2a,9,15,24,26	0	0,4	0,4	2,2	0,3	0	0	0	0	0
MGTKG	2a,2b,2c,9,15,19,20,24, 26	0	0	0,13	0,5	0	0	0	0,8	4,2	0
MHTKG	2a,2b,2c,9,15,19, 20,24	0	0	0,2	0,2	0	0	1,1	0,3	0,3	0
MHTKH	2a,2b,2c,9,15,19, 24	0	0	1,4	0	0	0	0	3,3	0	0,2
MHTKQ	2a,2b,2c,9,19, 20,24	0	0	1,5	0	0	0	0	6,1	1,4	0
MHTKR	2a,2b,2c,9,19, 24	0	0	4,8	0,2	0	0	0	12,8	1,1	0
PGTKG	2a,2b,9,15,19,20,24,26	0	0	0,4	0,5	0	0	0	0,7	1,1	0
PGTKH	2a,2b,9,15,19,24,26	0	0	0,4	0	0	4,1	0	0,2	7	0
PGTTG	2a,9,15,19,20,24,26	0	0,4	1,6	0,2	0	0	0	3,5	0	0
PGTTH	2a,9,15,19, 24,26	0	0	1,1	4	0,2	0	0	3,8	2,5	2,7
PGTTR	2a,9, 19, 24,26	1,3	8,7	1,9	1,9	0,3	0	10,9	0,8	1,4	0
PHTKG	2a,2b,9,15,19,20,24,26	0	0	0	0	0	9,5	0	1	0,3	0
PHTKH	2a,2b,9,15,19, 24	0	0,9	1,1	0,2	0	1,4	0	2,3	0	0
PHTKQ	2a,2b,9,15,19,20,24	0	0,4	0,8	0,2	0	0	2,7	1,5	1,4	0
PHTTG	2a,9,15,19,20,24	0	0	0,3	0,3	0	2,7	4,9	0,8	0	0
PHTTH	2a,9,15,19,24	0	0,4	1,4	0,3	0	14,9	6	4,4	0	0
TCTTR	9,16,19,24	1,3	0,9	0,5	0,2	0,3	0	0	0	3,9	2,1
TGTTQ	9,19,20,24,26	0	0,9	2,6	5,4	1	6,8	0	2,1	4,2	1,1
TGTTR	9,19, 24,26	1,3	7,4	12,1	23,5	38,2	6,8	16,9	8,4	29	11,3
THPTR	9,11,19,24	0	0	0	0,2	0	2,7	3,3	0	0	0,2
THTTQ	9,19,20,24	2,6	1,3	1,4	1,9	0,5	1,4	6,6	2,1	3,6	1,1
THTTR	9,19,24	21,4	13,4	17,4	15,1	33,3	0	23	9	8,9	14,3
TQTTR	19,24,26	0	0	0,3	0	0	0	0	0,2	0,6	38,9
TLTTR	16,19,24,26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,5
TQTTQ	19, 20,24,26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3,2
TGTTS	9,20,24,26	0	0	0,1	1,6	0,2	0	0,5	1	6,7	0
TGTTT	9,24,26	0	0,9	0,5	8,6	8,2	0	1,1	3,2	5,3	0



Сводные результаты анализа фенотипического состава российских популяций представлены на рисунке 2. Северокавказские (СК) и волжские популяции *P. triticina* были более сходны с центрально-европейскими, и эта группа отличалась от дагестанских и азиатских популяций. Согласно тесту Мантеля, выявлена высокая корреляция между результатами анализа структуры популяций по индексам Роджерса и  $F_{st}$  ( $r=0.92$ ).

## **ГЛАВА 4. СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИЙ ВОЗБУДИТЕЛЯ БУРОЙ РЖАВЧИНЫ НА МЯГКОЙ ПШЕНИЦЕ ПО ДНК-ПОЛИМОРФИЗМУ**

### **4.1 Исследования *Russinia triticina* по RAPD и УП ПЦР полиморфизму**

В 2007 г. популяционные исследования *P. triticina* были дополнены молекулярными подходами. Для оценки полиморфизма популяций патогена были апробированы RAPD и УП ПЦР-маркеры, с помощью которых изучили образцы популяций *P. triticina*, собранные на производственных посевах и ГСУ в Северо-Западном регионе. В дальнейшем эти исследования расширили включением в анализ популяций патогена широкого географического происхождения (из 7 регионов РФ). Проанализировано 417 монопустульных изолятов, в том числе 138 из Северо-Западного (СЗ), 43 из Северо-Кавказского (СК), 19 из Нижневолжского (НВ), 84 из Уральского (У), 44 из Западно-Сибирского (ЗС), 40 из Центрально-Черноземного (ЦЧ) и 48 из Центрального (Ц) региона. Согласно анализу вирулентности, определено 79 фенотипов (СЗ–35, СК–15, НВ–4, У–24, ЗС–14, ЦЧ–11, Ц–48). Один фенотип был общим для всех региональных популяций. Согласно индексам генетических расстояний, по вирулентности северокавказская и центральная популяции существенно отличались от других российских. Высоким сходством характеризовались западносибирская и уральская популяции, ближе к ним были центрально-черноземная и северо-западная популяции.

С использованием RAPD и УП ПЦР-праймеров оценили разнообразие по 14 полиморфным фрагментам. Выявлен 71 молекулярный фенотип (СЗ–37, 11–СК, НВ–16, У–21, ЗС–12, ЦЧ–13, Ц–14). Один общий RAPD фенотип обнаружен во всех популяциях с разной частотой (от 5% в Центральном регионе до 54% в Северо-Кавказском). Согласно индексам генетических расстояний, популяции объединились в две группы. В первую вошли северокавказские и западносибирские популяции, ближе к ним были северо-западные. Вторую группу составили популяции из Центрального региона, ЦЧР и Урала. Низкая степень корреляции отмечена между результатами анализа популяций по вирулентности и RAPD-маркерам согласно тесту Мантеля ( $r=-0.213$ ).

Высокая чувствительность RAPD-маркеров к изменениям условий реакций и возможность сравнения только фрагментов амплификации из одной ПЦР является ограничением для широкого использования данного метода в популяционных исследованиях.

### **4.2 Полиморфизм популяций *Russinia triticina* по микросателлитным маркерам**

В 2005 г. для анализа популяций *P. triticina* были подобраны микросателлитные маркеры и охарактеризованы популяции патогена во многих странах мира. Представляло интерес использовать эти маркеры для изучения структуры популяций *P. triticina* и в России.

В результате изучения российских популяций *P. triticina* в 2007-2014 гг. нами создана коллекция, включающая изоляты широкого географического происхождения. В микросателлитном анализе использовали 226 монопустульных изолятов. Изоляты отобраны по принципу представленности максимального разнообразия фенотипов вирулентности в региональных популяциях гриба. Изученная коллекция включала 20 уральских, 31 западносибирский, 53 центрально-европейских, 32 северо-западных, 32 волжских и 40 северокавказских (24 дагестанских (Д), 16 краснодарских и ставропольских (СК)) изолятов. Кроме того, в анализ включили 18 изолятов из Казахстана, которые были представлены фенотипами, широко распространенными в российских популяциях.

226 изолятов, используемых для микросателлитного анализа, были представлены 65 фенотипами вирулентности. Высоким сходством по вирулентности характеризовались западносибирские, уральские и казахстанские коллекции изолятов ( $K_{Vm}=0.04-0.08$ ). Эта группа отличалась от европейских, северокавказских и дагестанских коллекций, которые в разной степени дифференцировались между собой ( $K_{Vm}=0.09-0.14$ ) (рис. 3а).

В микросателлитном анализе оценили вариабельность 18 локусов и выявили 48 полиморфных аллелей. Число аллелей в изученных локусах варьировало от 2 до 4. Аллельное разнообразие ( $N_a$ ,  $N_e$ ) по SSR локусам было сходным во всех выборках изолятов. Уровень наблюдаемой гетерозиготности ( $H_o$ ) был выше уровня ожидаемой ( $H_e$ ). Индекс фиксации ( $F_{is}$ ) для всех коллекций *P. triticina* имел отрицательные значения, что указывает на избыток гетерозигот. Проверка соответствия распределения генотипов соотношению Харди-Вайнберга также показала наличие отклонений наблюдаемых частот генотипов от теоретически ожидаемых для большинства изученных локусов.

С использованием SSR-маркеров определено 69 генотипов, из них 31 отмечен в двух и более регионах. Высокое число сходных генотипов определено среди северо-западных, центрально-европейских, волжских и северокавказских изолятов, а также среди западносибирских, уральских и казахстанских (15 и 7 соответственно). Единичные общие генотипы идентифицированы в коллекциях патогена из географически отдаленных регионов: западносибирской и центрально-европейской; западносибирской и волжской; волжской и казахстанской. Большинство изолятов из Дагестана имели уникальные генотипы (75%) и только четыре были общими с изолятами из других регионов: один был широко представлен у европейских изолятов, два – у северокавказских (СК) и один – у уральского из Башкортостана.

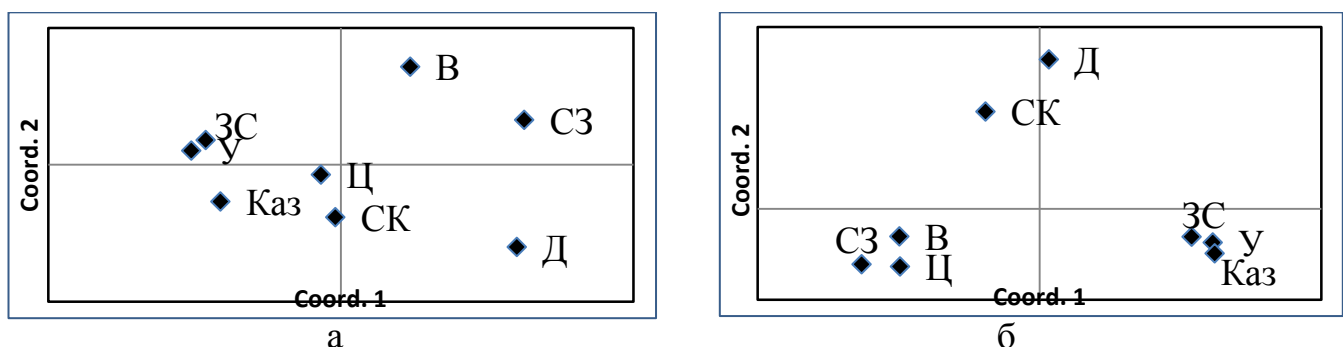


Рисунок 3 – Многомерная диаграмма сходства между региональными коллекциями изолятов *Puccinia triticina* по (а) вирулентности и (б) микросателлитным локусам (по индексу Космана,  $K_{Vm}$ )



Значения индексов генетических расстояний по микросателлитным локусам (Fst, Rst) указывали на высокое сходство между западносибирскими, уральскими и казахстанскими коллекциями изолятов; между волжскими, центрально-европейскими и северо-западными; между северокавказскими и дагестанскими. Отличия дагестанских изолятов от западноазиатских и всех европейских были выше, чем у северокавказских (СК). Аналогичные результаты получены по индексу KBm (рис. 3б).

С помощью теста Мантеля определена умеренная степень корреляции между результатами SSR-анализа и изучения вирулентности ( $r=0.49$ ).

SSR-анализ подтвердил дифференциацию российских популяций *P. triticina* на группы по географическому происхождению (азиатские и европейские). В отдельную группу выделились также обе северокавказские коллекции патогена (СК и Д). При этом они по-разному группировались с европейскими образцами *P. triticina*: коллекция изолятов СК характеризовалась меньшими различиями, чем дагестанская. Высокое число уникальных генотипов (75%) в дагестанской коллекции *P. triticina* указывает на некоторую изоляцию данной популяции. На наш взгляд, представляется возможным выделить дагестанскую коллекцию в отдельную кавказскую группу, а СК – в «пограничную» между европейской и кавказской.

Наличие общих SSR генотипов в дагестанских, краснодарских и других европейских популяциях указывает на существенный генный поток между ними. Низкое сходство между азиатскими и европейскими популяциями по SSR-маркерам указывает на разное происхождение инфекции в этих регионах. Превышение уровня наблюдаемой гетерозиготности над ожидаемой во всех коллекциях изолятов предполагает клоновую репродукцию гриба.

Высокое соответствие результатов анализа структуры по микросателлитным локусам и по признаку вирулентности получено для азиатских коллекций изолятов *P. triticina*. По обоим типам маркеров западносибирские, уральские и казахстанские изоляты объединялись в генетически родственную группу. Различия между европейскими коллекциями изолятов по вирулентности были существенно выше, и их кластеризация несколько отличалась от SSR-анализа (рис. 3).

Микросателлитные маркеры оказались более нейтральными при анализе европейских популяций. Полученные с их использованием результаты согласуются с информацией о распространении спор возбудителя бурой ржавчины на европейской территории России (Лебедев, 1997; Санин, 2012).

## **ГЛАВА 5. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИЙ *PUSCINIA TRITICINA* НА ВИДАХ ПШЕНИЦЫ И ЭГИЛОПСА**

В вегетативной фазе гриб *P. triticina* поражает не только мягкую пшеницу, но и другие культурные и дикие злаки. Ранее полиморфизм *P. triticina* был изучен только на твердой пшенице и *Ae. speltoides* и показаны существенные различия между изолятами, обитающими на этих злаках, по вирулентности и микросателлитным маркерам (Liu et al., 2014). Представляло интерес оценить изменчивость изолятов патогена, развивающихся на других видах-хозяевах.

### **5.1 Полиморфизм *Puccinia triticina* по вирулентности на видах *Triticum* и *Aegilops***

На Дагестанской опытной станции ВИР (ДОС ВИР), расположенной в Южном Дагестане (Дербентский район), ежегодно изучается генетически разнообразная

коллекция пшениц и эгилопсов. В 2014 г. инфекционный материал *P. triticina* был собран с диплоидного вида *Ae. tauschii*, тетраплоидных видов *T. aethiopicum*, *T. turanicum*, *T. dicoccum*, *Ae. crassa* и гексаплоидных *Ae. juvenalis*, *Ae. trivialis*, *T. compactum*, *T. macha*, *T. petropavlovskiyi*, *T. spelta*, *T. sphaerococcum*, *T. vavilovii* и *T. aestivum*. Дополнительно в исследования включили коллекции патогена с видов *T. dicoccum*, *T. dicoccoides* и *T. aestivum*, собранные на экспериментальном посеве ИЦиГ (Новосибирск), а также с видов *T. durum*, *T. aestivum*, полученные из НПЦЗХ им. Бараева (Северный Казахстан).

С использованием 20 линий-дифференциаторов охарактеризовано 347 монопустульных изолятов и определено 40 фенотипов вирулентности. Семь фенотипов выявлено в двух и более коллекциях изолятов. Существенные статистические различия по среднему числу аллелей вирулентности наблюдали у изолятов, полученных с видов-хозяев разной ploidy.

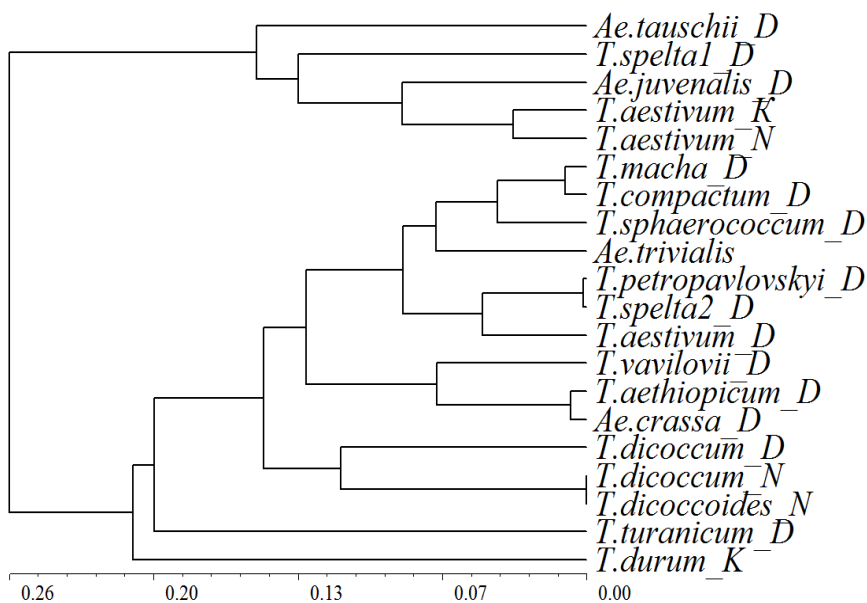


Рисунок 4 – UPGMA-дендрограмма генетических расстояний между коллекциями изолятов *P. triticina* по вирулентности, 2014 г. (по индексу Космана,  $KB_m$ )  
D – Дагестан, N – Новосибирск, K – Казахстан

Высокая степень сходства по вирулентности отмечена между дагестанскими изолятами, выделенными из гексаплоидных видов *T. compactum*, *T. macha*, *T. petropavlovskiyi*, *T. spelta* 2, *T. sphaerococcum*, *T. vavilovii* и *Ae. trivialis* ( $KB_m = 0,01-0,11$ ). Изоляты с *T. spelta* 1 и *Ae. juvenalis* ( $KB_m = 0,15-0,25$ ) умеренно отличались от них и различались между собой (рис. 4). Индекс  $KB_m$  для большинства изолятов с тетраплоидных видов указывал на умеренные различия между ними

(от 0,15 до 0,17), за исключением изолятов с *Ae. crassa* и *T. aethiopicum*, сходство между которыми было высоким ( $KB_m = 0,01$ ).

Изоляты с диплоидного вида *Ae. tauschii* были ближе с изолятами с гексаплоидных ( $KB_m = 0,12-0,28$ ), чем с тетраплоидных видов ( $KB_m = 0,3-0,41$ ) (рис. 4). Существенные различия определены между отдаленными географическими популяциями *P. triticina* (дагестанскими, новосибирскими и североказахстанскими) с мягкой пшеницы и изученных тетраплоидных видов. Новосибирские изоляты с *T. dicoccum* имели большее число аллелей вирулентности по сравнению с дагестанскими с этого же вида.

В 2014 г. высокую репрезентативность имела коллекция изолятов с гексаплоидных видов (9 видов), умеренную – с тетраплоидных (4 вида) и низкую – с диплоидных (1 вид). В связи с этим в 2017 г. анализ был дополнен изолятами с диплоидных и тетраплоидных видов.

Инфекционный материал был собран на ДООС ВИР с диплоидных видов *Ae. caudata*, *Ae. sharonensis*, *Ae. tauschii*, *T. monococcum*, тетраплоидных *T. durum*, *T. dicoccoides*, *T. dicoccum*, *T. aethiopicum*, *T. polonicum*, *T. persicum* и гексаплоидных *T. compactum* и *T. aestivum*. Изучено 109 изолятов. Общие фенотипы определены на гексаплоидных видах *T. aestivum* и *T. compactum*, тетраплоидных видах *T. durum*, *T. dicoccoides*, *T. dicoccum*, *T. aethiopicum*, *T. polonicum* и *T. persicum* и диплоидных *T. monococcum* и *Ae. tauschii*; *Ae. sharonensis* и *Ae. caudata*. Все дагестанские изоляты с тетраплоидных видов были авирулентны к TcLr2a, TcLr2b, TcLr2c, TcLr15 и TcLr17. Изоляты с тетраплоидных видов характеризовались меньшим числом аллелей вирулентности (10,1) по сравнению с изолятами с гексаплоидных видов (14,3), что согласуется с результатами 2014 г. для изолятов с других тетра- и гексаплоидных видов (9,4 и 12,7 соответственно).

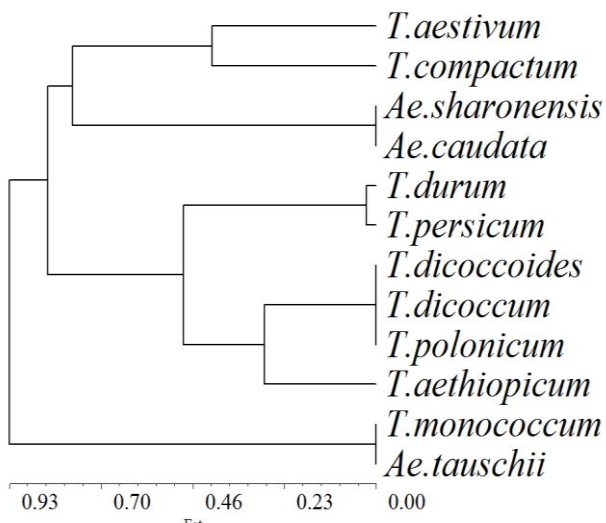


Рисунок 5 – UPGMA-дендрограмма генетических расстояний между коллекциями изолятов *P. triticina* по вирулентности, 2017 г. (по индексу Fst)

Изоляты с диплоидных видов *Ae. tauschii* и *T. monococcum* характеризовались более широким спектром вирулентности (15 аллелей), по сравнению с изолятами с *Ae. sharonensis* и *Ae. caudata* (10). Для изолятов с *Ae. tauschii* результаты согласуются с полученными в 2014 г. (14,6).

Согласно индексам генетических расстояний (Нея и Fst), изученные коллекции *P. triticina* объединились в несколько групп. Одну из них составляли изоляты с тетраплоидных видов. В другую группу вошли изоляты с диплоидных видов *Ae. caudata* и *Ae. sharonensis*, и с гексаплоидных *T. aestivum* и *T. compactum*. Третью группу составляли изоляты с диплоидных видов *Ae. tauschii* и *T. monococcum* (рис. 5).

## 5.2 Полиморфизм микросателлитных локусов у изолятов *Puccinia triticina* на видах *Triticum* и *Aegilops*

При анализе полиморфизма микросателлитных локусов в 2014 г. использовали 181 монопустульный изолят, полученный с 17 видов *Triticum* и *Aegilops*. С использованием 18 SSR-маркеров определено 45 полиморфных аллелей и 41 генотип. Число аллелей на локус варьировало от 2 до 4, исключая локус PtSSR76, который оказался мономорфным. Среднее число SSR аллелей у изученных изолятов варьировало от 2 (*Ae. tauschii*) до 1,17 (*T. petropavlovskiyi*, *T. macha*, *Ae. trivialis*). Число эффективных аллелей было выше у изолятов с *Ae. tauschii* и *T. dicoccoides* (1,45 и 1,43 соответственно), и ниже – с *T. petropavlovskiyi* (1,11). Генотипическое разнообразие было максимальным в коллекции изолятов с *Ae. tauschii* ( $I=0,42$ ) и минимальным – с *T. petropavlovskiyi* и *Ae. trivialis* ( $I=0,09$ ). Наблюдаемая гетерозиготность ( $H_o$ ) была выше, чем ожидаемая ( $H_e$ ) для большинства изученных коллекций *P. triticina*, что подтверждается отрицательными значениями индекса фиксации.

Согласно индексу Fst, не выявлено существенных различий между изолятами *P. triticina*, выделенными с гексаплоидных видов *T. spelta*, *T. vavilovii*, *Ae. trivialis*,

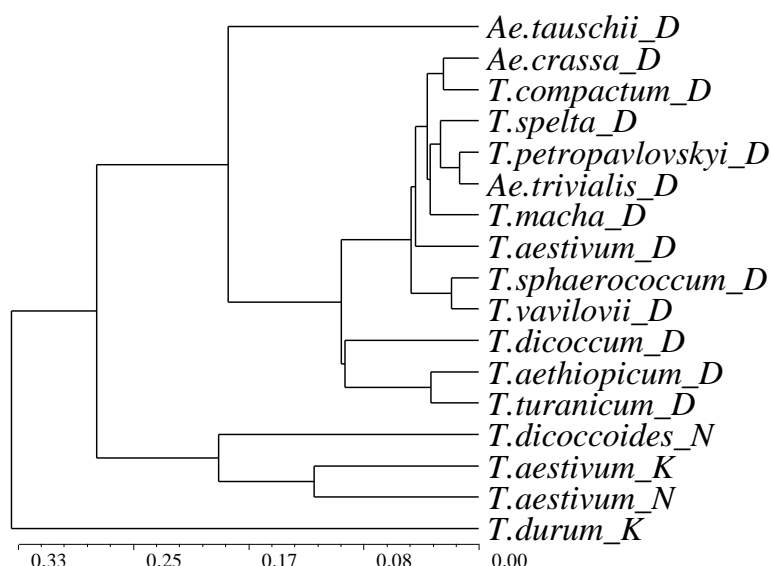


Рисунок 6 – UPGMA-дендрограмма генетических расстояний между коллекциями изолятов *P. triticina* по микросателлитным маркерам, 2014 г. (по индексу Космана, KBm)

D – Дагестан, N – Новосибирск, K – Казахстан

*T. sphaerococcum*, *T. petropavlovskiyi*, *T. macha*, *T. compactum*, *T. aestivum* и с тетраплоидного *Ae. crassa*. Другую близкородственную группу составляли изоляты с тетраплоидных видов *T. dicoccum*, *T. aethiopicum* и *T. turanicum*. Изоляты с *Ae. tauschii* существенно отличались от всех изученных. Аналогичные результаты получены по индексам Нея и Космана (рис. 6). Дагестанские изоляты с близкородственных тетраплоидных видов *T. aethiopicum*, *T. turanicum* и *T. dicoccum*, имеющих геном

ВВА<sup>u</sup>A<sup>u</sup>, характеризовались высоким сходством и отличались от изолятов с тетраплоидного вида *Ae. crassa* (D<sup>c</sup>D<sup>c</sup>MM).

Как и по признаку вирулентности, микросателлитный анализ позволил выявить различия между коллекциями изолятов по географическому происхождению. Все дагестанские изоляты с мягкой пшеницы существенно отличались от западносибирских и североказахстанских. Изоляты с *Ae. tauschii* группировались отдельно от других дагестанских, а казахстанские с *T. durum* – от всех изученных. Тест Мантеля выявил умеренную корреляцию в структуре распределения коллекций изолятов *P. triticina* по вирулентности и микросателлитным локусам ( $r=0,49$ ). В обоих случаях выделенные группы изолятов *P. triticina* соотносились с плоидностью и генетическим родством видов-хозяев, при этом наблюдали различия в составе подгрупп (рис. 4,6).

В 2017 г. полиморфизм микросателлитных локусов изучили у 27 дагестанских изолятов *P. triticina*, полученных с шести тетраплоидных (*T. durum*, *T. dicoccoides*, *T. dicoccum*, *T. aethiopicum*, *T. polonicum*, *T. persicum*), четырех диплоидных (*T. monococcum*, *Ae. tauschii*, *Ae. sharonensis*, *Ae. caudata*) и двух гексаплоидных видов (*T. aestivum*, *T. compactum*).

С использованием 16 микросателлитных маркеров идентифицировано 25 полиморфных аллелей. Среднее число аллелей на локус ( $N_a$ ) составляло  $1,25 \pm 0,05$ ; число эффективных аллелей ( $N_e$ ) –  $1,22 \pm 0,03$ ; % полиморфных локусов –  $25 \pm 2,5$ ; индекс Шеннона ( $I$ ) –  $0,16 \pm 0,02$ . Уровень наблюдаемой гетерозиготности ( $H_o$ ) во всех коллекциях изолятов был выше уровня ожидаемой ( $H_e$ ), что подтверждается отрицательными значениями индекса фиксации ( $F$ ).

Согласно индексу Нея ( $N$ ), высоким родством по микросателлитным локусам характеризовались коллекции изолятов на гексаплоидных видах *T. aestivum* и *T. compactum* ( $N = 0,004$ ). Умеренно сходны с ними были коллекции патогена, полученные с *T. dicoccum*, *T. dicoccoides* (0,004–0,008), *T. monococcum* (0,003–0,02),

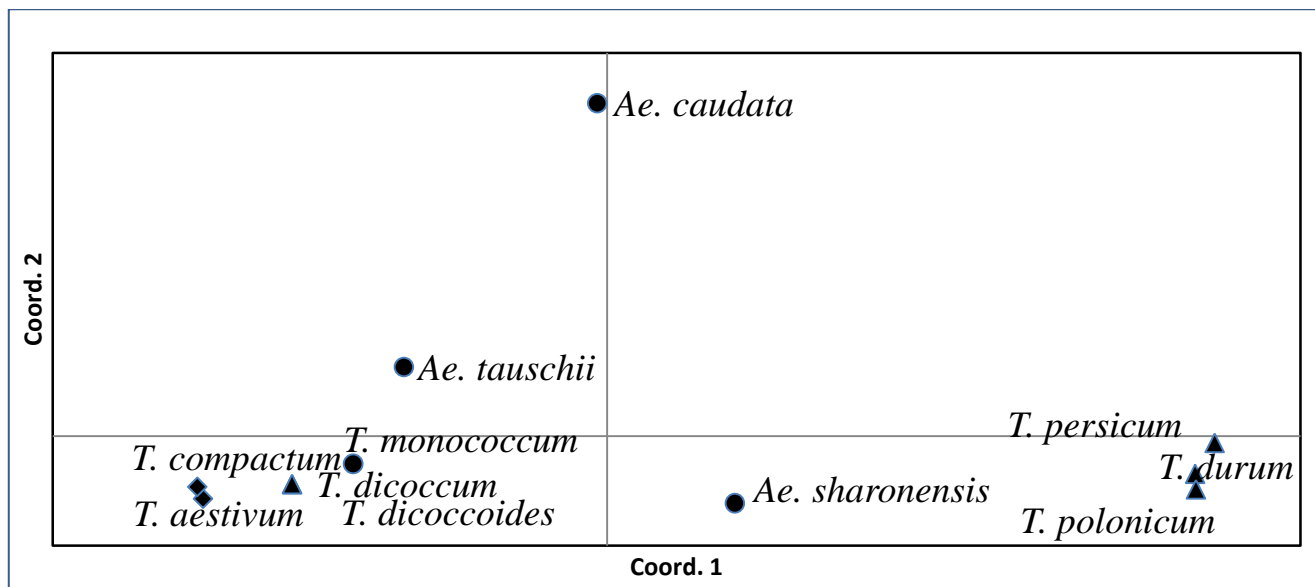


Рисунок 7 – Многомерная дендрограмма генетического родства между коллекциями изолятов *P. triticina* по микросателлитным маркерам, 2017 г. (по индексу Fst)

*Ae. tauschii* (0,01–0,02) и *Ae. sharonensis* (0,02). В отдельную близкородственную группу выделились изоляты с *T. durum*, *T. polonicum* и *T. persicum* (0,004–0,02), причем эта группа умеренно отличалась от всех других изученных (0,08–0,1). Изоляты с *Ae. caudata* характеризовались более существенными различиями со всеми изученными (0,1–0,2). Аналогичные результаты получены по индексу Fst (рис. 7).

Считается, что наибольшим генетическим разнообразием характеризуются центры происхождения видов. В данном исследовании с использованием инфекционного материала, собранного в 2014 г. и 2017 г., подтверждено высокое генотипическое разнообразие дагестанской популяции возбудителя бурой ржавчины по признаку вирулентности и по микросателлитным локусам. Изоляты с гексаплоидных и диплоидных видов *Triticum* и *Aegilops* характеризовались более высоким полиморфизмом по вирулентности, чем изоляты с тетраплоидных видов. Все изоляты с тетраплоидных видов характеризовались меньшим числом аллелей вирулентности по сравнению с изолятами с других видов. Существенные различия по вирулентности и микросателлитным локусам отмечены между изолятами с гексаплоидных и тетраплоидных видов *T. durum*, *T. polonicum* и *T. persicum*, что указывает на существование генетически различающихся групп изолятов в дагестанской популяции *P. triticina*.

### 5.3 Полиморфизм дагестанских изолятов *Puccinia triticina*, выделенных с видов родителей, по SNP-маркерам

В 2010 г. были подобраны SNP-маркеры, которые позволяют оценить филогенетическое родство между изолятами *P. triticina* с разных видов-хозяев и их дивергенцию. С использованием SNP-маркеров была изучена микроэволюция гриба патогена на мягкой и твердой пшеницах и *Ae. speltoides*. Показано, что сопряжённая эволюция шла по вектору *Ae. speltoides* (донор генома В и цитоплазмы аллополиплоидных рядов пшеницы) – *T. durum* (эфиопские формы) – *T. aestivum* (Liu et al., 2014). Представляло интерес провести SNP-анализ дагестанских изолятов *P. triticina*, полученных с разных видов *Aegilops* и *Triticum*, и сравнить их полиморфизм с представленными в Генбанке для изолятов с твердой и мягкой пшеницы из других стран.

Для SNP-анализа использовали 24 изолята *P. triticina*. Среди них – 12 дагестанских изолятов, охарактеризованных по вирулентности и полиморфизму микросателлитных локусов в 2017 г. (1 с *Ae. tauschii*, 2 с *Ae. sharonensis*, 1 с *T. monococcum*, 1 с *T. dicoccum*, 1 с *T. dicoccoides*, 1 с *T. polonicum*, 1 - *T. aethiopicum*, 1 с *T. aestivum*, 3 – с *T. durum*), и 7, охарактеризованных в исследованиях в 2014 г. (1 с *Ae. tauschii*, 1 с *T. boeiticum*, 1 с *T. aethiopicum*, 1 с *T. spelta*, 1 с *T. vavilovii*, 1 с *T. petropavlovskiyi*, 1 с *T. sphaerococcum*). Дополнительно в исследования включили два изолята с *T. aestivum* (Алтай, 2017 г.), 1 с *T. durum* (Казахстан, 2014 г.), 1 с *T. dicoccoides*, 1 с *T. aestivum* (Новосибирск, 2014 г.). Для осуществления SNP-анализа использовали три стабильно амплифицирующихся локуса: ctg1-3, ctg5-1, ctg84-1. SNP-анализ выявил 14 полиморфных сайтов при использовании маркера ctg1-3, 15 сайтов – для ctg5-1 и 3 сайта – для ctg84-1. Филогения изученных нами изолятов *P. triticina* и референсных из исследований М. Liu с соавторами (2014) представлена на рисунке 8. Изоляты *P. triticina* разделились на 2 клады (достоверность 95%). Изоляты из Эфиопии с твердой пшеницы, взятые в качестве референсной группы из исследований М. Liu с соавторами (информация о них представлена в Генбанке), существенно отличались от всех изученных. М. Liu с соавторами (2014) показали, что в историко-эволюционном контексте они рассматриваются в качестве более ранних, по отношению ко всем другим на твердой и мягкой пшенице. В наших исследованиях большинство дагестанских изолятов с *T. aestivum* формировали две

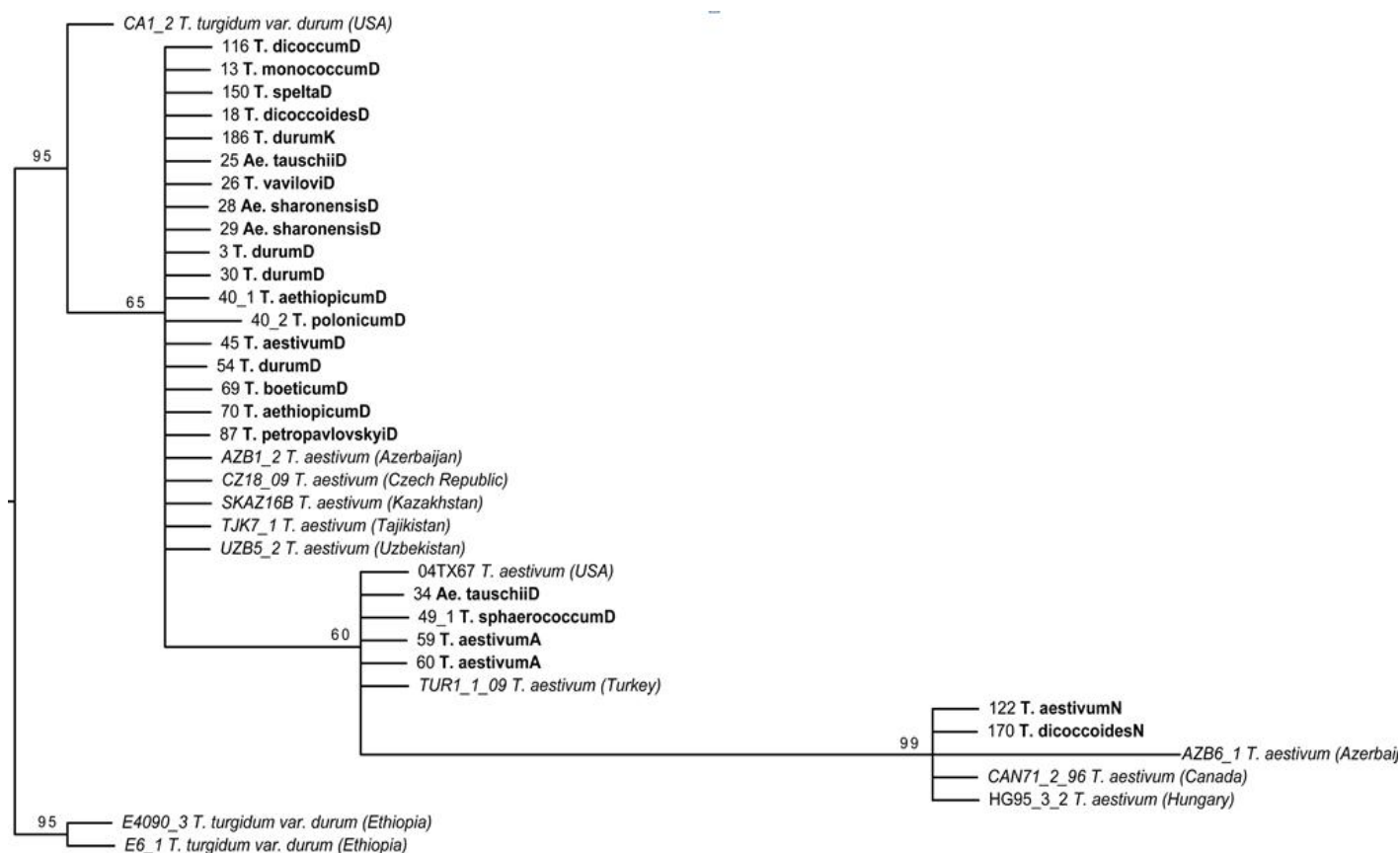


Рисунок 8 – Филогенетическое древо изолятов *P. triticina* разного происхождения, построенное методом Байеса

Числами указаны значения апостериорной вероятности. Курсивом выделены изоляты, исследованные в статье Liu et al. (2014) и выбранные в настоящей работе в качестве референсных групп. (D – дагестанские, А – алтайские, N – новосибирские).

слабо поддерживаемых клады, что свидетельствует об их низком уровне дивергенции. В отдельную кладу выделились изоляты с мягкой пшеницы из Новосибирска и 3 референсных из Канады, Венгрии, Азербайджана. Такой уровень сходства для референсных сиквенсов ранее не был отмечен их авторами (Liu et al., 2014) (данные были получены для большего числа изолятов и изучено больше локусов). Вероятно, несмотря на высокий уровень поддержки, эту группу можно расценивать как артефакт, и она, возможно, элиминируется при увеличении числа локусов и изолятов.

## **Глава 6. ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ РОССИЙСКИХ СОРТОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ПО УСТОЙЧИВОСТИ К ВОЗБУДИТЕЛЮ БУРОЙ РЖАВЧИНЫ**

Анализ расового состава популяций неотделим от иммуногенетических исследований пшеницы. Изучение генетической основы устойчивости к бурой ржавчине у возделываемых сортов пшеницы позволяет уточнить причину изменений в структуре популяций патогена. Для этого, начиная с 1996 г., мы проводим изучение устойчивости к бурой ржавчине у сортов пшеницы, рекомендуемых для возделывания в РФ (<http://reestr.gossort.com>).

### **6.1 Характеристика сортов, включенных в Государственный реестр селекционных достижений, по устойчивости к возбудителю бурой ржавчины**

Общая доля устойчивых к бурой ржавчине сортов пшеницы в Государственном реестре селекционных достижений в 1996 г. не превышала 4%. При анализе 61 сорта озимой пшеницы и 100 яровой пшеницы выявлено два озимых сорта (Даха и Половчанка) и пять яровых (Л503, Л505, Самсар, Прохоровка и Терция). Сорта Обрий, Федоровка, Херсонская 86, Саратовская 90, Колос Дона, Юна характеризовались умеренным уровнем устойчивости (тип реакции 2<sup>+</sup>–3<sup>-</sup>).

Аналогичный эксперимент в 2005 г. выявил возрастание в районировании числа яровых сортов с расоспецифической устойчивостью (15%). К ним относились Белянка, Добрыня, Пирамида, Тулайковская 5, Тулайковская 10, Юлия, Тулеевская, Соната, Форя, Обская 14, Экада 6, Волгоуральская, Ершовская 32. Среди озимых высоким уровнем устойчивости характеризовался сорт Сплав.

При анализе 119 сортов озимой и 60 – яровой мягкой пшеницы, включенных в Госреестр в 2006–2011 гг., высокой устойчивостью к бурой ржавчине характеризовались 3% озимых сортов (Немчиновская 24, Айвина, Богданка, Поэма) и 25% яровых (Тулайковская золотистая, Удача, Алтайская 530, Кинельская Нива, Тулайковская 100, Фаворит, Воевода, Кинельская отрада, Лебедушка, Новосибирская 44, Омская 37, Сibaковская юбилейная, Челябинка юбилейная, Алтайская 110, Мария 1, Челябинка степная).

В 2012–2017 гг. в Госреестр включено 118 сортов озимой и 59 – яровой пшеницы. Среди них 6% озимых сортов и 22% яровых (Апасовка, Курьер, Новосибирская 18, Челябинка 75, КВС Аквилон, Сибирская 17, Зауралочка, Тулайковская 108, Канюк, Экада 113, Кинельская 2010, Тулайковская 110, Кинельская юбилейная, Челябинка ранняя) имели разный уровень устойчивости в фазе проростков.

Проведенный анализ показал, что в 2010 гг. наблюдается динамика возрастания в районировании сортов пшеницы, в разной степени устойчивых к бурой ржавчине.

## 6.2 Генетическое разнообразие сортов пшеницы, рекомендуемых для выращивания в РФ

Для оценки степени разнообразия современных сортов мягкой пшеницы, рекомендуемых для выращивания в РФ, провели идентификацию *Lr*-генов.

С использованием молекулярных маркеров у яровых сортов пшеницы выявлена широкая представленность генов *Lr9* и *Lr19* (табл. 2). Сорта с геном *Lr19* составляют 6% от общего числа яровых, включенных в Госреестр, а с геном *Lr9* – 9%. Яровые сорта с геном *Lr9* преимущественно рекомендуются для выращивания в Западно-Сибирском и Уральском регионах, где их доля составляет, соответственно, 15 и 11%, а с геном *Lr19* – в Поволжье (14%).

Несмотря на то, что эффективность генов *Lr9* и *Lr19* утрачена, продлить срок их «полезной жизни» позволяет сочетание с другими *Lr*-генами, например с *Lr26*. Примерами таких сортов являются районированные сорта Омская 37 и Омская 38, несущие гены *Lr19+Lr26*, и перспективный сорт Силач с генами *Lr9* и *Lr26*.

Таблица 2. Сорта пшеницы, охарактеризованные как носители эффективных и частично эффективных *Lr*-генов, и регионы их допуска (<http://reestr.gossort.com>)

Сорт	Год допуска	Регион допуска	Сорт	Год допуска	Регион допуска
<b>Сорта с геном <i>Lr9</i></b>			<b>Сорта с геном <i>Lr24</i></b>		
Терция	1995	ЗС, ВС, У, СК	Канюк (+1AL/1RS, <i>Lr20</i> )	2016	Ц
Тулеевская	2002	ЗС, У	КВС Аквилон	2013	Ц, ЦЧР
Сплав	2002	СЗ	<b>Сорта с геном <i>Lr19</i></b>		
Соната	2002	ЗС	Л 503 (+ <i>Lr10</i> )	1993	НВ, СВ, ЦЧР, У
Дуэт (+ <i>Lr10</i> )	2003	ЗС, У	Самсар	1994	СВ
Пирамида	2004	ВВ, СВ	Л 505 (+ <i>Lr10</i> )	1996	НВ, У, ВВ
Челяба 2 (+ <i>Lr10</i> )	2005	У	Волгоуральская	2001	СВ
Памяти Рюба	2006	ЗС, У	Добрыня	2002	НВ
Удача	2006	ЗС	Юлия	2002	СВ
Немчиновская 24	2006	Ц, ВВ	Ария	2004	У
Александрина	2007	ЗС	Экада 6	2005	СВ
Кинельская отрада	2009	СВ	Кинельская 61 (+ <i>Lr10</i> )	2005	СВ
Новосибирская 44 (+ <i>Lr1, Lr10</i> )	2009	ЗС	Кинельская Нива	2007	СВ, У
Сibaковская юбилейная (+ <i>Lr1, Lr10</i> )	2010	ЗС	Лебедушка (+ <i>Lr6Ag<sup>i</sup></i> )	2009	НВ
Челяба юбилейная	2010	ЗС	Омская 37 (+ <i>Lr26</i> )	2009	ЗС
Мария 1 (+ <i>Lr10</i> )	2011	ЗС	Омская 38 (+ <i>Lr26</i> )	2010	ЗС
Челяба степная (+ <i>Lr1, Lr10</i> )	2011	У	Тулайковская 108 (+ <i>Lr?</i> )	2014	СВ, У
Алтайская 110 (+ <i>Lr10</i> )	2011	ЗС	Экада 113	2014	СВ, У
Апасовка (+ <i>Lr10</i> )	2012	ЗС	Тулайковская 110 (+ <i>Lr?</i> )	2015	СВ
Новосибирская 18 (+ <i>Lr10</i> )	2012	ЗС, ВС	Кинельская юбил.	2016	СВ, У
Сибирская 17	2013	ЗС	Ульяновская 105	2017	СВ, У
Немчиновская 17	2013	Ц	<b>Сорта с геном <i>Lr6Ag<sup>i</sup>2</i></b>		
Сибирский альянс (+ <i>Lr1</i> )	2012	ЗС, ВС	Тулайковская 5 (+ <i>Lr10, Lr34</i> )	2001	СВ, У
Зауралочка (+ <i>Lr10</i> )	2014	ЗС	Тулайковская 10	2003	Ц, ЦЧР, ВВ, СВ, У
Кинельская 2010	2014	СВ, У	Тулайковская золотистая	2006	СВ, НВ, У
Челяба ранняя (+ <i>Lr10</i> )	2016	У	Тулайковская 100	2007	СВ
Стольпинская (+ <i>Lr10</i> )	2017	ЗС	<b>Сорта с геном <i>Lr6Ag<sup>i</sup></i></b>		
<b>Сорта с геном <i>LrSp</i></b>			Беянка	1999	НВ
Челяба 75 (+ <i>Lr1, Lr10</i> )	2012	У	Фаворит	2007	ЦЧР, СВ, НВ, У
			Воевода	2008	НВ



У умеренно устойчивого сорта яровой пшеницы Курьер определено несколько малоэффективных генов *Lr1*, *Lr10* и *Lr26*. Высокоэффективный ген *Lr24* идентифицирован у яровых сортов Канюк и КВС Аквилон зарубежной селекции, рекомендованных для возделывания в центрально-европейских регионах РФ. У сорта Канюк также идентифицирован также ген *Lr20* и пшенично-ржаная транслокация 1AL.1RS с эффективными генами устойчивости к бурой и стеблевой ржавчине. Эта транслокация выявлена и у озимых сортов Богданка (+*Lr34*), Княгиня Ольга (+*Lr1*, *Lr34*) и Кохана (+*Lr1*, *Lr34*).

У высоко устойчивых яровых сортов Белянка, Фаворит, Тулайковская 5, Тулайковская 10, Тулайковская 100, Тулайковская золотистая, Челябин 75 и озимого сорта Поэма маркеры известных эффективных *Lr*-генов не обнаружены. С использованием подобранных нами маркеров j09/1/Φ2 и j09/1/4a у сортов Белянка, Фаворит, Воевода и Лебедушка определен ген *Lr6Ag<sup>i</sup>*, а у сорта Челябин 75 – ген *LrSp* в сочетании с малоэффективными генами *Lr1* и *Lr10*.

Анализ показал, что доля яровых сортов с ювенильной устойчивостью, обусловленной высоко- или частично эффективными олигогенами, в Госреестре составляет свыше 20%, причем четверть из них несут *Lr*-гены, неидентичные известным эффективным.

Ситуация с озимыми сортами несколько иная. Свыше половины изученных сортов, преимущественно рекомендованных для возделывания в Северо-Кавказском регионе, характеризовались разным уровнем устойчивости в полевых условиях в фазе взрослых растений. В стадии проростков их тип реакции на заражение патогеном менялся, в зависимости от используемых клонов или популяций гриба, от устойчивости (R) до восприимчивости (S), что указывало на отсутствие у этих сортов высокоэффективных ювенильных *Lr*-генов. Ген возрастной устойчивости *Lr37* идентифицирован у озимого сорта Морозко (+*Lr1*). У других сортов скрининг не выявил известных эффективных генов возрастной устойчивости. При этом у них определено широкое распространение малоэффективных генов *Lr1*, *Lr10*, *Lr26* и гена частичной устойчивости *Lr34*, которые встречались по отдельности и в разных сочетаниях. Можно предположить, что устойчивость взрослых растений этих сортов обеспечивается комбинацией генов с утраченной эффективностью. Сводные результаты по распространению *Lr*-генов в российских сортах мягкой пшеницы приведены в таблице 3.

### **6.3 Молекулярные подходы в идентификации генов устойчивости к бурой ржавчине**

Молекулярные маркеры для идентификации *Lr*-генов мы используем с 2004 г. За этот период изучено свыше 50 маркеров. Перед использованием каждого из них для скрининга пшеницы проводили валидацию, которая включала проверку специфичности маркера с использованием изогенных Tc*Lr*-линий, положительных и отрицательных контролей. Высокую специфичность в наших исследованиях показали маркеры J13, SCS5 гена *Lr9*, маркеры Gb, SCS265 гена *Lr19*, маркеры Sr24#50, Sr24#12, SCS73, SCS1302, S1326, SCOAB-1 гена *Lr24*, маркер Lr25F20/R19 гена *Lr25*, маркер Lr29F24 гена *Lr29*, маркер GDM35 гена *Lr41*(=39), маркер PS10 гена *Lr47*, маркер WR003 F/R гена *Lr1*, маркеры F1.2245/Lr10-6/r2, Lrk10-6, Lrk10-D гена *Lr10*, маркер STS638 гена *Lr20*, маркеры SCM9, iag 95 гена *Lr26*, маркеры csLV34, L34DINT9F: L34MINUSL34PLUS гена *Lr34*, маркеры Sr39 F2/R3, BCD260F1/35R2 гена *Lr35*, маркер Ventriup/LN2 гена *Lr37*, маркер S30-13L /AGA7

Таблица 3. Распространение *Lr*-генов в сортах мягкой пшеницы, рекомендуемых для возделывания в РФ

Сорта	Количество	Распространение <i>Lr</i> -генов (%)												
		<i>Lr9</i>	<i>Lr19</i>	<i>Lr24</i>	<i>LrAg</i>	<i>LrAgi</i>	<i>LrSp</i>	<i>Lr1</i>	<i>Lr10</i>	<i>Lr20</i>	<i>Lr26</i>	<i>Lr34</i>	<i>Lr37</i>	<i>1AL.1RS</i>
Озимые	294	1	0	0	0	0	0	16	16	0	12	39	0,3	1
Яровые	213	8,9	6,6	0,9	1,9	1,9	0,5	14,5	42,7	1,4	7,5	6,6	0	0,5
Сорта, рекомендованные для центрально-европейских регионов														
Озимые	96	3	0	0	0	0	0	12	9	0	5	21	0	1
Яровые	42	0	5	5	2	2	0	12	31	9	7	5	0	2
Сорта, рекомендованные для Северо-Кавказского региона														
Озимые	183	0	0	0	0	0	0	21	18	0	16	46	0,5	1
Яровые	9	0	0	0	0	0	0	11	55	0	22	0	0	0
Сорта, рекомендованные в Поволжье														
Озимые	124	0	0	0	0	0	0	7	13	0	5	27	0	0
Яровые	78	5	14	0	5	4	0	9	37	0	6	8	0	0
Сорта, рекомендованные в Уральском регионе														
Яровые	74	11	9	0	0	4	1	9	42	0	11	7	0	0
Сорта, рекомендованные в Западно-Сибирском регионе														
Яровые	79	15	2	0	0	0	0	17	47	0	7	9	0	0
Сорта, рекомендованные в Восточно-Сибирском и Дальневосточном регионах														
Яровые	38	3	0	0	0	0	0	21	50	0	3	10	0	0

-759R гена *Lr51*. Определенные ограничения для массового применения (отдельные случаи ложноположительных результатов) показаны для маркеров SCS421 гена *Lr28*; SCS253, BF145935 гена *Lr19*; J09, SC-H5, bars71 гена *Lr24*; Xgwm382, WMS382 гена *Lr50*; Lr21F/R гена *Lr21*; GWM296 гена *Lr22a*; WMC43 гена *Lr32*; Xmwg798 гена *Lr3*; Lr38F/Lr38R гена *Lr38*; Sr39#22r, Sr39#50s, BE500705 гена *Lr35*; S13-R16 гена *Lr66*. Абсолютной неэффективностью для скрининга пшеницы в наших исследованиях характеризовались STS и SNP (Tyrka et al., 2004) маркеры гена *Lr1*, STS маркер (Naik et al., 1998) гена *Lr28*, маркер Lr29F18 гена *Lr29*, маркеры Xgwm295, Xgwm130, Xbarc35 гена *Lr34* и маркеры Xgwm259, Xbarc80, XSTS1BL2, XSTS1BL9, XSTS1BL17 и BARC80 гена *Lr46*.

## Глава 7. ВЛИЯНИЕ ВЫРАЩИВАЕМЫХ СОРТОВ ПШЕНИЦЫ НА ИЗМЕНЧИВОСТЬ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИЙ *Puccinia triticina* ПО ВИРУЛЕНТНОСТИ

Для сохранения и увеличения срока «полезной жизни» устойчивых сортов необходимо знать, как быстро меняется вирулентность патогена. Изучение частот вирулентности к известным *Lr*-генам позволяет оценить динамику вирулентности патогена и выявить эффективные гены.

### 7.1 Динамика вирулентности популяции *Puccinia triticina* в европейской части России

Большинство сортов, возделываемых в Северо-Западном, Центральном и Центрально-Черноземом регионах РФ характеризуется разной степенью восприимчивости к бурой ржавчине. У восприимчивых сортов широкое распространение имеют малоэффективные гены *Lr1* и *Lr10*. В Центральном и Центрально-Черноземном регионах ограниченно выращиваются озимые сорта с геном *Lr9* и яровые – с геном *Lr19*.

Высокой эффективностью (пораженность 0%) в европейских регионах во все годы исследований характеризовались гены *Lr29*, *Lr41*, *Lr42*, *Lr45*, *Lr47*, *Lr51*, *Lr53* и *Lr57*. Изоляты, вирулентные к *Lr9*, впервые обнаружены в ЦЧР и Поволжье в 2013 г. Вирулентность к *TcLr19* была выше в 2011–2017 гг. (8%), чем в 2001–2010 гг. (3%). Частоты вирулентности к *TcLr24* были стабильно низкими в течение всего периода изучения. Существенное варьирование в частотах вирулентности наблюдали на линиях Thatcher с генами *Lr1*, *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr15*, *Lr20*, *Lr26* (от 0 до 100%). Начиная с конца 2010 гг., отмечено возрастание частот вирулентности к *TcLr1* (94,1%) (до 2009 г. – 63,9%) и снижение – к *TcLr2a* (28,7% и 56,3% соответственно). Для генов *Lr20* и *Lr26* частоты варьировали по годам спонтанно. Для всех других *TcLr*-линий частоты вирулентности были стабильно высокими во все годы исследований.

### **7.2 Динамика вирулентности популяции *Puccinia triticina* в Поволжье**

В Поволжье, наряду с восприимчивыми сортами яровой мягкой пшеницы, широко выращиваются устойчивые сорта, содержащие транслокации от *Ag. elongatum* с геном *Lr19* и от *Ag. intermedium* с генами *Lr6Ag<sup>i</sup>1* и *Lr6Ag<sup>i</sup>2*, а также сорта с геном *Lr9*. У восприимчивых сортов определено широкое распространение малоэффективных генов *Lr10* и *Lr26*.

Высокой эффективностью в Поволжье характеризовались гены *Lr29*, *Lr41*, *Lr42*, *Lr45*, *Lr47*, *Lr50*, *Lr51*, *Lr53* и *Lr57*. Изоляты, вирулентные к *Lr9*, впервые определены в самарской популяции в 2013 г. Вирулентность к *TcLr24* и *TcLr28* единично отмечали до 2010 г. Изоляты, вирулентные *Lr19*, встречались ежегодно с разной частотой. Существенное варьирование частот вирулентности патогена отмечено на линиях с генами *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr2c*, *Lr15*, *Lr16*, *Lr20*, *Lr26* и *Lr44*. К другим используемым в анализе *TcLr*-линиям частоты вирулентности оставались стабильно высокими во все годы исследований (80-100%).

### **7.3 Динамика вирулентности популяции *Puccinia triticina* в Северо-Кавказском регионе**

Образцы *P. triticina*, полученные из Краснодарского, Ставропольского краев и Ростовской области (СК), мы анализировали отдельно от дагестанских.

До 2005 г. большинство сортов пшеницы, выращиваемых в Северо-Кавказском регионе (СК), характеризовались разной степенью восприимчивости к возбудителю бурой ржавчины. Многие современные сорта озимой пшеницы, рекомендуемые для выращивания в регионе, характеризуются разным уровнем полевой устойчивости и несут разные сочетания генов *Lr1*, *Lr10*, *Lr26* и *Lr34*.

Высокой эффективностью в Северо-Кавказском регионе во все годы исследований характеризовались гены *Lr9*, *Lr41*, *Lr42*, *Lr45*, *Lr47*, *Lr50*, *Lr51*, *Lr53* и *Lr57*. Изоляты, вирулентные к линиям Thatcher с генами *Lr19*, *Lr24*, *Lr28*, единично встречались до 2010 г.

Существенное варьирование в частотах вирулентности по годам исследований отмечено на линиях с генами *Lr1*, *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr2c*, *Lr15*, *Lr20*, *Lr23* и *Lr26*. При этом средние значения частот вирулентности для этих линий в периоды 2001-2010 гг. и 2011-2017 гг. были на близком уровне, за исключением линии *TcLr1*, для которой наблюдали умеренное возрастание частот (с 61,7% до 88,2%).

#### **7.3.1 Многолетние исследования вирулентности дагестанской популяции**

Исследования вирулентности дагестанской популяции *P. triticina* имеют долгую (1970-2017 гг.) историю (Михайлова 1973; Дмитриев, 1975; Дмитриев et al.,

1976; Берлянд-Кожевников и др., 1978; Михайлова и др., 1997). Общими для всех лет исследований при анализе дагестанской популяции были сорта или линии с генами устойчивости *Lr1*, *Lr2a*, *Lr3a*, *TcLr10*, *TcLr14*, *TcLr16*, *TcLr17*, *TcLr18* и *Lr26*, что позволяет оценить динамику вирулентности дагестанской популяции патогена в ретроспективе (47 лет).

Сопоставление наших данных (2001–2017 гг.) с ранее полученными показало, что частоты вирулентности патогена к линиям *TcLr3a*, *TcLr10*, *TcLr14a*, *TcLr16*, *TcLr18* были стабильно высокими во все годы исследований (от 70 до 100%). Вирулентность к *TcLr17* варьировала от 32 до 100% в 1970–1982 гг. и достигла 100% в 1983–2017 гг. Во все годы исследований изменения дагестанской популяции преимущественно затрагивали частоты клонов, вирулентных к *Lr1*, *Lr2a* и *Lr26* (рис. 9). С 1970 г. по 1974 г. наблюдалось плавное нарастание численности клонов, вирулентных к *Lr1* и *Lr2a* (p1p2a). С 1980 г. оно сменилось процессом такого же плавного снижения их численности до практически отсутствия вирулентных клонов в периоды 1986–1989 и 1991–1993 гг. В 1985 и 1990 гг. наблюдалось скачкообразное увеличение численности клонов, авирулентных к *Lr1*, *Lr2a* (P1P2a), затем следовали периоды низкой их численности. В 1994–1995 гг. численность клонов P1, P2 несколько выросла, но оставалась относительно стабильной до 2011 г. С 2011 г. наблюдается резкое изменение популяции. До 2011 г. наблюдали ассоциацию аллелей p1p2a или P1P2a, т. е. изоляты, авирулентные (вирулентные) к *TcLr1*, были также авирулентны (вирулентны) к *TcLr2a*. С 2011 г. в дагестанской, как и в других российских популяциях, наблюдается повышение частот вирулентности к гену *Lr1*, при отсутствии изменений в частотах вирулентности к гену *Lr2a*. Вирулентность к гену *Lr26* нарастает скачкообразно с 2001 г. по 2010 г. и спонтанно варьирует в последующий период.

Проведенный анализ вирулентности дагестанской популяции показал, что основная ее изменчивость связана с вирулентностью к линиям с малоэффективными генами *Lr1*, *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr15* и *Lr26*. При этом длительный срок «полезной жизни» сохраняется для генов *Lr9* и *Lr19*, несмотря на то, что их эффективность утрачена в других регионах России: *Lr9* – в западноазиатских, *Lr19* – в волжских.

Определенную стабильность дагестанской популяции можно объяснить высоким генетическим разнообразием изучаемых на ДОС ВИР образцов пшеницы и

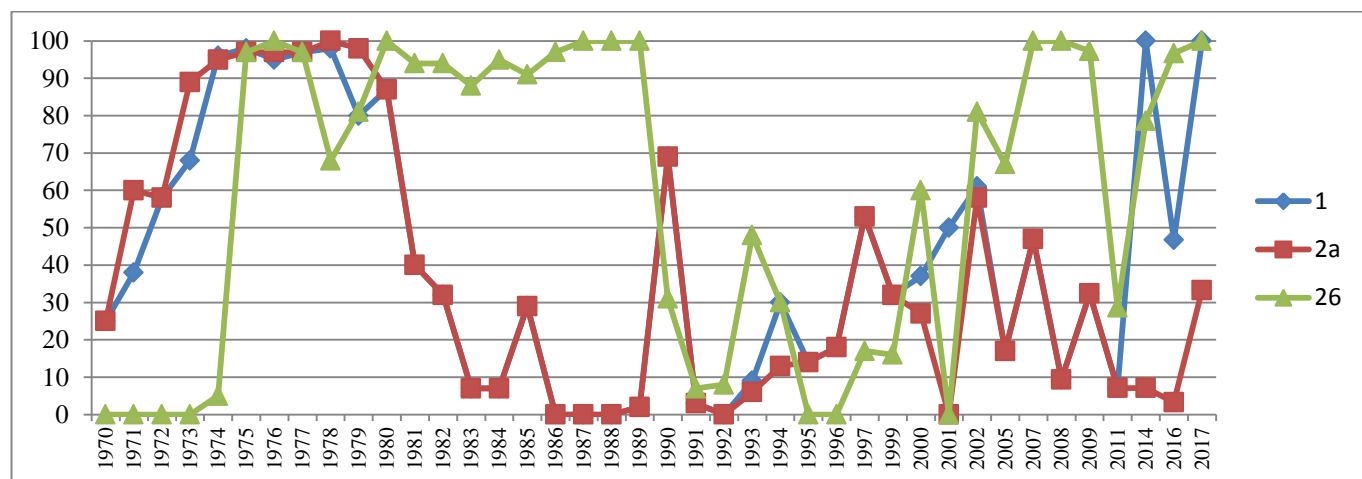


Рисунок 9 – Частоты клонов, вирулентных к линиям *TcLr1*, *TcLr2a* и *TcLr26*, в дагестанской популяции *Puccinia triticina* в 1970–2017 гг.

отсутствием направленного отбора со стороны генетически однородных сортов. При этом в ней, как и других российских популяциях, в начале 2010 гг. отмечается повышение частот вирулентности к *Lr1* при отсутствии существенных изменений в частотах вирулентности к *Lr2a*.

#### **7.4 Динамика вирулентности популяции *Puccinia triticina* в Уральском регионе**

Большинство сортов яровой пшеницы, выращивавшихся в Уральском регионе до 2005 г., характеризовались восприимчивостью к возбудителю бурой ржавчины. У них выявлено широкое распространение малоэффективных генов *Lr10*, *Lr26* и *Lr1*. Начиная с 2000 гг., в регионе начали широко возделывать сорта с геном *Lr9*.

Высокой эффективностью в регионе характеризовались гены *Lr29*, *Lr41*, *Lr42*, *Lr45*, *Lr47*, *Lr50*, *Lr51*, *Lr53* и *Lr57*. До 2010 г. ген *Lr9* также относился к группе высокоэффективных, но в дальнейшем в популяции патогена появились вирулентные клоны, численность которых ежегодно возрастала. Изоляты, вирулентные к *Lr24* и *Lr28*, встречались единично до 2010 г. Вирулентность к линии *TcLr19* была выше в 2001-2011 гг. (11,2%), чем в 2010-2017 гг. (0,8%). Варьирование частот вирулентности отмечено на линиях с генами *Lr2a*, *Lr15*, *Lr23*, *Lr26* и *Lr44*. При этом средние значения частот вирулентности к линиям с этими генами в 2001-2010 гг. и 2011-2017 гг. оставались на близком уровне, за исключением линии *TcLr26*, вирулентность к которой была выше до 2010 г. Частоты вирулентности ко всем другим *TcLr*-линиям во все годы исследований были стабильно высокими (80-100%). Основные изменения уральской популяции в изученный период времени затрагивали частоты вирулентности к *Lr9*, *Lr19* и *Lr26*, т.е. генам, которые были широко представлены в выращиваемых в регионе сортах пшеницы.

#### **7.5 Динамика вирулентности популяции *Puccinia triticina* в Западно-Сибирском регионе**

Сортимент яровой пшеницы, возделываемой в Западной Сибири до 2000 г., характеризовался высокой степенью восприимчивости к бурой ржавчине. Первый устойчивый сорт Терция с геном *Lr9* был рекомендован к районированию с 1995 г.; в последующий период наблюдается постепенное нарастание в производстве сортов с этим геном.

К группе высокоэффективных относились гены *Lr29*, *Lr 41*, *Lr42*, *Lr45*, *Lr47*, *Lr51*, *Lr53* и *Lr57*. Изоляты, вирулентные к линиям Thatcher с генами *Lr24* и *Lr28*, встречались до 2010 г. Вирулентность к *TcLr19*, как и в Уральском регионе, была выше в 2001-2009 гг. (4,1%), чем в 2010-2017 гг. (1%). Изоляты, вирулентные к *TcLr9*, впервые обнаружены в 2010 г., и в последующий период отмечена динамика возрастания их встречаемости. Частоты вирулентности к *TcLr26* были выше в 2009-2010 гг. (68,1%), чем в 2010-2017 гг. (40,9%). Частоты вирулентности ко всем другим *TcLr*-линиям во все годы исследований были стабильно высокими (80-100%). Основные изменения западносибирской популяции, как и уральской, касались вирулентности к *Lr9*, *Lr19* и *Lr26*.

#### **7.6 Вирулентность популяций *Puccinia triticina* в России в 2001–2017 гг.**

Анализ вирулентности возбудителя бурой ржавчины в регионах РФ показал высокую эффективность ювенильных *Lr*-генов *Lr29*, *Lr 41*, *Lr42*, *Lr45*, *Lr47*, *Lr50*, *Lr51*, *Lr53* и *Lr57*. Вирулентность к *Lr24* и *Lr28* в большинстве изученных региональных популяциях отмечали только до 2010 гг. Это могло быть связано с использованием «загрязненных» *Lr*-линий, которые в 2010 г. были протестированы

с использованием ПЦР-маркеров, и для дальнейших исследований отобран генетически чистый материал. Высокоэффективные гены могут служить потенциалом для селекции ржавчиноустойчивых сортов в России.

Изоляты, вирулентные TcLr9, начали отмечать в уральских и западносибирских популяциях с 2010 г. В 2013 г. они впервые обнаружены в ЦЧР и Поволжье, что указывает на расширение ареала вирулентности к Lr9. При этом ген сохраняет эффективность в Северо-Кавказском и Северо-Западном регионах. Изоляты, вирулентные к Lr19, до 2010 г., встречались во всех популяциях, за исключением дагестанской. Частоты их были выше в Поволжье, где широко возделываются сорта, защищенные этим геном. В отдельные годы они были высоко представлены в Центрально-Черноземном и Уральском регионах, где также выращивают сорта с этим геном.

Все проанализированные изоляты, вирулентные к Lr9 или Lr19, характеризовались авирулентностью к Lr26. Таким образом, сочетание этих генов может быть эффективно в защите пшеницы от бурой ржавчины. Подтверждением этому являются сорта Омская 37, Омская 38 и Омская 41 с генами Lr19+Lr26 и сорт Силач с генами Lr9+Lr26.

Существенное варьирование в частотах вирулентности выявлено на линиях с генами Lr1, Lr2a, Lr2b, Lr2c, Lr9, Lr20 и Lr26. Частоты вирулентности к Lr2a, Lr2b и Lr15 были ниже в центрально-европейских и Северокавказском регионах и выше в Поволжье, на Урале и в Западной Сибири (рис. 10а-в). Значительные спонтанные колебания частот вирулентности отмечены на линиях с генами Lr20 и Lr26 (от 0 до 100%) (рис. 10 г,д). В центрально-европейских и северокавказских регионах прослеживается тенденция нарастания частот вирулентности к Lr1 (рис. 10 е). Вероятно, это связано с увеличением в районировании сортов с геном Lr1. По информации, присланной из регионов, сорт Московская 39 и другие, несущие ген Lr1, доминируют в выращиваемом сортименте пшеницы, и их часто присылают в качестве источников инфекционного материала. Частоты вирулентности ко всем другим TcLr-линиям были высокими во все годы исследований (85-100%). Среди этих генов в российских сортах широкую представленность имеют гены Lr3 и Lr10.

Согласно индексу Нея (N) по частотам вирулентности в отдельные группы выделились уральская и западносибирская популяции *P. triticina*, а также дагестанская (рис. 11). Волжские и другие европейские популяции в разной степени отличались от них.

Сводные результаты изучения структуры российских популяций *P. triticina* по частотам вирулентности за изученный период времени (2001-2017 гг.) представлены на рисунке 12. На многомерной диаграмме выявлено несколько групп популяций: 1) дагестанская, 2) азиатская и 3) европейская, включающая центрально-европейские, северокавказские (СК) и волжские популяции. Северокавказская популяция (СК) была более сходна со всеми европейскими ( $N=0.004$ ), чем с дагестанской ( $N=0.13$ ) популяцией. Согласно тесту Мантеля, выявлена высокая корреляция результатов изучения региональных популяций по индексу Нея с полученными по фенотипическому составу по индексам Роджерса ( $r=0.88$ ) и Fst ( $r=0,95$ ).

### **7.7 Мониторинг эффективности Lr-генов в полевых условиях Северо-Запада России**

Высокую устойчивость в полевых условиях Северо-Западного региона имели линии с генами Lr9, Lr19, Lr24, Lr25, Lr29, Lr41, Lr42, Lr45, Lr47, Lr51, Lr53 и Lr57.

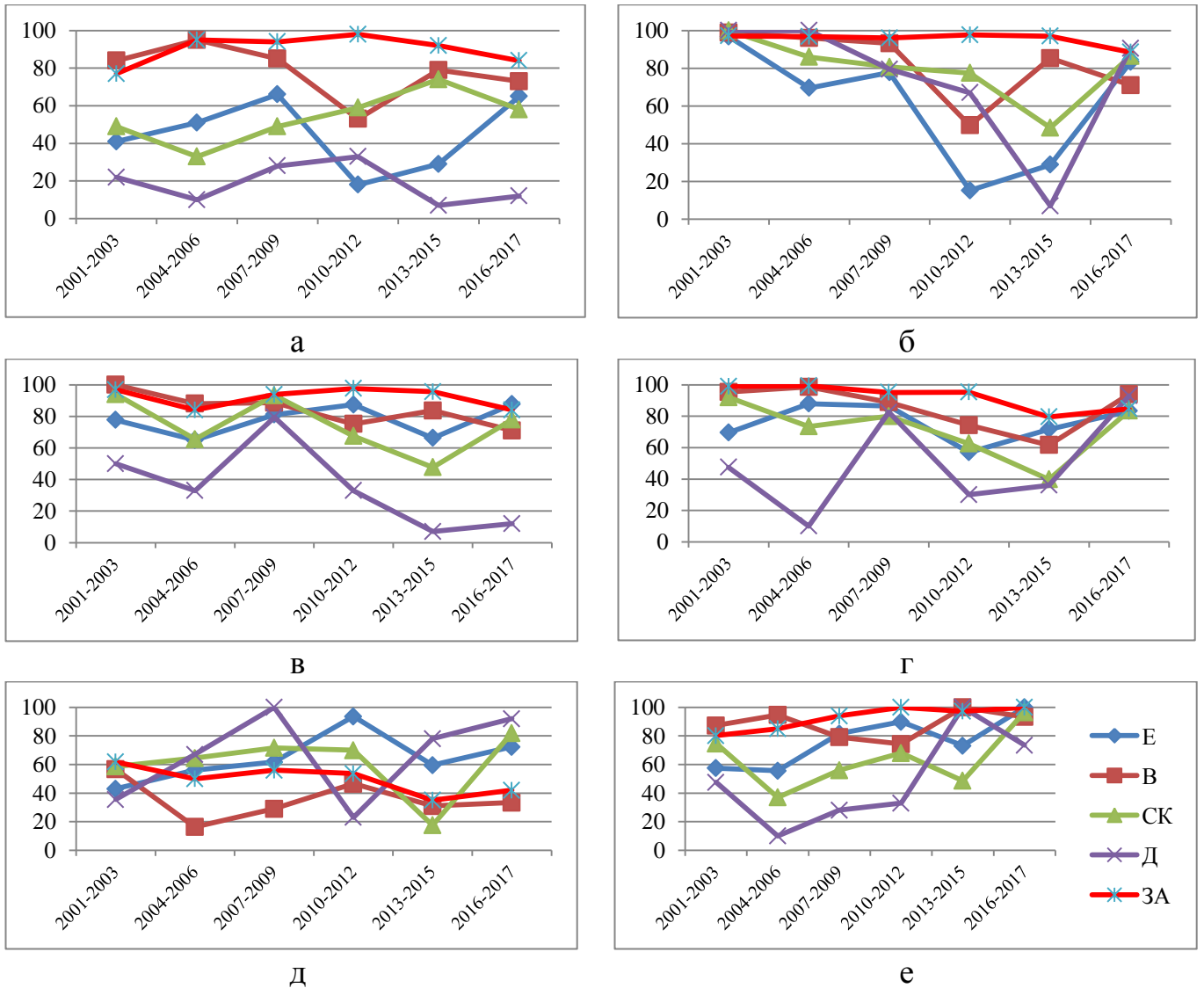


Рисунок 10 – Динамика вирулентности популяций *Puccinia triticina* к линиям с генами *Lr2a* (а), *Lr2b* (б), *Lr15* (в), *Lr20* (г), *Lr26* (д) и *Lr1* (е) в 2001-2017 гг.

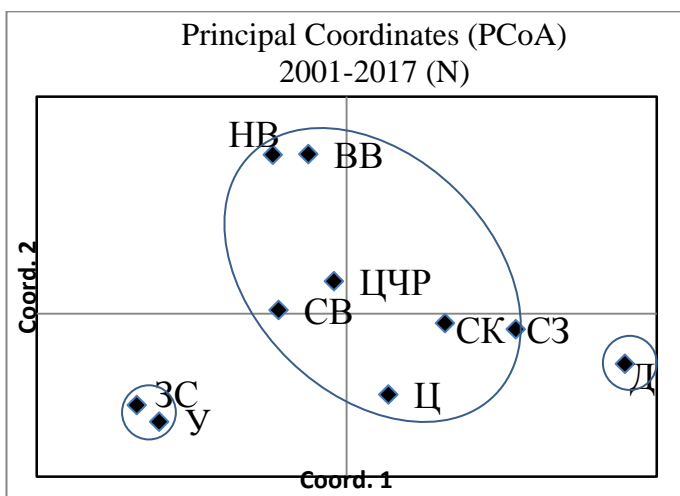


Рисунок 11 – Многомерная диаграмма генетического сходства региональных российских популяций *Puccinia triticina* по вирулентности в 2001-2017 гг. (по индексу Нея, N)

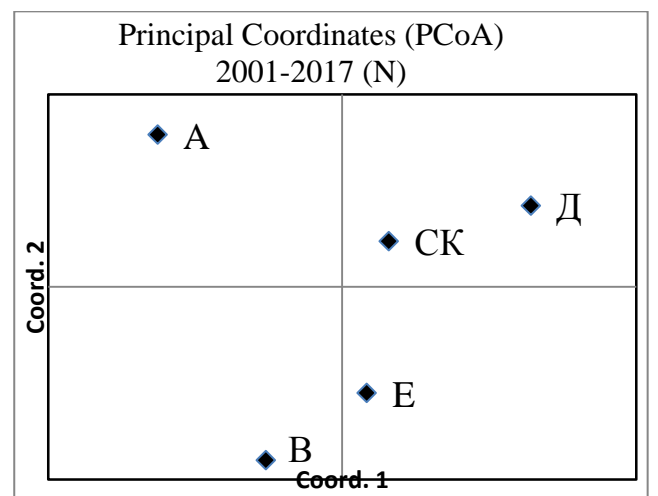


Рисунок 9 – Многомерная диаграмма генетического сходства между группами популяций *Puccinia triticina* по вирулентности в РФ в 2001-2017 гг. (по индексу Нея)

К группе среднеустойчивых (варьирование пораженности от 0 до 10%) относились линии с генами *Lr23*, *Lr28*, *Lr35*, *Lr37*, *Lr40*, *Lr48*, *Lr49*, *Lr50*. На линиях с генами *Lr11*, *Lr12*, *Lr13*, *Lr18*, *Lr27+31*, *Lr32*, *Lr44*, *Lr52 (=W)*, *Lr46* и *Lr64* степень поражения колебалась от 0 до 80%. Все остальные изученные линии характеризовались высокой восприимчивостью (поражение от 50 до 100%). Многолетний (2003–2017 гг.) полевой мониторинг эффективности *Lr*-генов не выявлял существенных изменений в северо-западной популяции патогена за изученный период времени.

## **ГЛАВА 8. ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОЭВОЛЮЦИОННЫХ ПРОЦЕССОВ В РОССИЙСКИХ ПОПУЛЯЦИЯХ *PUSCINIA TRITICINA* (ЗАКЛЮЧЕНИЕ)**

С привлечением анализа вирулентности и нейтральных молекулярных маркеров проведено исследование полиморфизма популяций фитопатогенного гриба *P. triticina* в урединальной стадии при его развитии на мягкой пшенице и видах-родичах. В результате охарактеризованы микроэволюционные процессы, произошедшие в популяциях патогена за изученный период времени (2001–2017 гг.). В частности, уточнена внутрипопуляционная структура и механизмы ее изменчивости, ареалы популяций и вероятность миграции спор между ними.

Для определения ареалов популяций аэрогенного патогена *P. triticina* необходимо было проведение масштабных исследований, охватывающих как можно более обширную территорию в течение одного вегетационного сезона. В связи с этим мы пользовались образцами популяций, присылаемыми из областных станций защиты растений (в настоящее время ФГБУ Россельхозцентр) и научно-исследовательских учреждений. Это позволило обеспечить широкую по географическому происхождению репрезентативность изучаемого инфекционного материала *P. triticina* (урединиообразцов), полученных из основного ареала возделывания озимой и яровой пшеницы (растения-хозяина).

Возбудитель бурой ржавчины пшеницы характеризуется слабой внутривидовой изменчивостью по морфологическим признакам. Вирулентность является одним из значимых характеризующих его признаков. Частоты фенотипов вирулентности патогена используют во всем мире для мониторинга структуры популяций. Только перманентные многолетние исследования популяций патогена позволяют охарактеризовать происходящие в них изменения, поскольку существенные различия в структуре популяций могут наблюдаться в отдельные годы из-за высокой зависимости частот вирулентности от влияния растения-хозяина. Доминирование в анализируемом материале инфекционных образцов из ГСУ и селекционных учреждений существенно повышает внутрипопуляционное разнообразие патогена и, соответственно, степень различий между этими и другими образцами *P. triticina*, собранными на производственных посевах.

В ВИЗР популяционно-генетические исследования *P. triticina* проводятся с 1980 г. В проведенном нами анализе структуры популяций *P. triticina* по признаку вирулентности не отмечено существенных изменений в ареалах популяций возбудителя бурой ржавчины на территории РФ в 2001–2017 гг., по сравнению с предыдущим периодом. Достоверные различия выявлены между дагестанскими, азиатскими и центрально-европейскими группами популяций *P. triticina*. При этом отмечены радикальные изменения фенотипического состава во всех региональных популяциях в 2010–2017 гг.



С использованием микросателлитных маркеров впервые в России подтверждена дифференциация популяций на группы: азиатские, европейские и северокавказские. Наличие общих SSR генотипов в дагестанских, краснодарских и других европейских образцах популяций подтвердило интенсивный генный поток на данной территории. Невысокое число общих SSR генотипов в азиатских и европейских популяциях указывает на разное происхождение инфекции в этих регионах.

С использованием инфекционного материала возбудителя бурой ржавчины, собранного с диплоидных (*Ae. tauschii*, *T. monococcum*, *Ae. sharonensis*, *Ae. caudata*), тетраплоидных (*T. aethiopicum*, *T. turanicum*, *T. dicoccoides*, *T. dicoccum*, *T. polonicum*, *T. persicum*, *T. durum*, *Ae. crassa*) и гексаплоидных (*T. spelta*, *T. sphaerococcum*, *T. vavilovii*, *T. petropavlovskiyi*, *T. macha*, *Ae. trivialis*, *T. compactum*, *T. aestivum*) видов *Triticum* и *Aegilops* определен разный уровень генотипического и генетического разнообразия дагестанских изолятов *P. triticina*. Изоляты с гексаплоидных и диплоидных видов *Triticum* и *Aegilops* характеризовались более высоким полиморфизмом по вирулентности, чем изоляты с тетраплоидных видов. Существенные различия по вирулентности и микросателлитным локусам выявлены между изолятами с гексаплоидных и тетраплоидных видов, а также между изолятами с диплоидных видов, что указывает на существование нескольких групп изолятов в дагестанской популяции *P. triticina*. Изменчивость, обусловленная действием отбора хозяина, предопределяла формирование состава популяций гриба по вирулентности. Однако эти изменения затрагивали не только генетические механизмы вирулентности патогена, но и полиморфизм микросателлитных локусов. В мировой литературе подобные сведения ранее обсуждались только для изолятов с *T. durum*, *T. aestivum* и *Ae. speltoides* (Ordoñez et al., 2007; Mantovani et al., 2010). Анализ филогенетического родства между дагестанскими изолятами с разных видов-хозяев не выявил существенных различий между ними и указал на сходную степень дивергенции.

Использование молекулярных маркеров при исследовании дагестанской популяции *P. triticina*, развивающейся на мягкой пшенице и диких родичах, дополнило имеющиеся сведения о ее генетической изменчивости.

В целом и вирулентность, и молекулярные маркеры показали высокую результативность при оценке генетической вариабельности *P. triticina* и могут быть использованы для популяционных исследований. Выбор маркера должен зависеть от цели предполагаемых исследований. Для практической селекции и мониторинга появления новых агрессивных рас основная информация может быть получена только с использованием маркеров вирулентности. Применение молекулярных маркеров более актуально в фундаментальных исследованиях генетического разнообразия и микроэволюционных процессов.

Перманентный анализ популяций в течение длительного периода позволил охарактеризовать структуру популяций возбудителя бурой ржавчины на мягкой пшенице и выявить дискретные изменения, произошедшие в ней. Изучение устойчивости растений-хозяев (сортов пшеницы), возделываемых в разных регионах РФ, позволило объяснить произошедшие в популяции патогена изменения. Показано, что в последнее десятилетие отмечен очевидный прогресс в создании и внедрении в производство устойчивых к бурой ржавчине сортов пшеницы. Общая доля яровых сортов с ювенильной устойчивостью, обусловленной высоко или

частично эффективными олигогенами, в Госреестре составляет свыше 20%, и четверть из них несут *Lr*-гены, неидентичные известным эффективным. С использованием молекулярных маркеров определено широкое распространение в российских сортах яровой пшеницы генов *Lr19* и *Lr9*. Большинство сортов с геном *Lr19* возделывается в Поволжье, а с геном *Lr9* – на Урале и в Западной Сибири. Ситуация с озимыми сортами несколько иная. Устойчивые к бурой ржавчине озимые сорта преимущественно характеризуются разным уровнем устойчивости в фазе взрослых растений и у многих из них выявлено наличие различных сочетаний малоэффективных генов *Lr1*, *Lr10*, *Lr26* и гена частичной устойчивости *Lr34*. Полученные данные популяционных исследований и представленности *Lr*-генов в сортах пшеницы следует учитывать в региональных селекционных программах и при размещении новых генетически защищенных сортов. При создании новых генотипов могут быть рекомендованы доноры известных генов устойчивости к бурой ржавчине, выделенные в настоящих исследованиях, а также эффективные сочетания генов, потерявших эффективность в России. Наличие молекулярных маркеров, подобранных для использования в маркер-вспомогательной селекции, существенно облегчает эту задачу.

## ВЫВОДЫ

1. В результате многолетнего (2001-2017 гг.) мониторинга вирулентности популяций возбудителя бурой ржавчины пшеницы в семи регионах РФ: Северо-Западном, Центральном, Центрально-Черноземном, Северо-Кавказском, Нижневолжском, Средневолжском, Волго-Вятском, Уральском и Западно-Сибирском охарактеризован фенотипический состав и структура распределения фенотипов вирулентности патогена. Выявлены изменения фенотипического состава популяций *P. triticina* во всех регионах РФ в 2010-2017 гг. по сравнению с предыдущим десятилетием. Общим в изменчивости для всех региональных популяций явилась замена фенотипов группы F- (авирулентность к *Lr1* и *Lr2a*) на фенотипы групп P- и M- (вирулентность к *Lr1* и авирулентность к *Lr2a*). В азиатской популяции отмечено появление и нарастание численности новых фенотипов TQ-, TL-, характеризующихся вирулентностью к *Lr9*.

2. Установлена дифференциация российских популяций *P. triticina* по признаку вирулентности на три группы: европейская, азиатская и кавказская. Высокой стабильностью ареала характеризовались азиатская и кавказская популяции, некоторое изменение ареала отмечено для европейской популяции.

3. Впервые в России с использованием молекулярных маркеров охарактеризован полиморфизм популяций *P. triticina* из разных географических регионов. С использованием микросателлитных маркеров подтверждена дифференциация российских популяций *P. triticina* на европейскую, азиатскую и кавказскую группы. Установлен интенсивный генный поток между кавказской и европейской популяциями *P. triticina*, и слабый – между азиатской и европейской.

4. Определено высокое генотипическое разнообразие дагестанской популяции *P. triticina* по микросателлитным локусам и высокое по сравнению с другими российскими популяциями число уникальных генотипов (75%).

5. В дагестанской популяции *P. triticina* выявлено несколько контрастных групп изолятов, различающихся по вирулентности и микросателлитным локусам. В отдельную группу выделены изоляты с тетраплоидных видов *T. aethiopicum*, *T.*

*turanicum*, *T. dicoccoides*, *T. dicocum*, *T. polonicum*, *T. persicum*. Они характеризовались меньшим числом аллелей вирулентности (9,4-10,1) и были авирулентны к линиям *TcLr2a*, *TcLr2b*, *TcLr2c*, *TcLr15*, *TcLr17*. Изоляты с гексаплоидных видов *T. spelta*, *T. sphaerococcum*, *T. vavilovii*, *T. petropavlovskiyi*, *T. macha*, *Ae. trivialis*, *T. compactum*, *T. aestivum* имели большее число аллелей вирулентности (12,7-14,3) и характеризовались высоким сходством. Существенные различия выявлены между коллекциями патогена на диплоидных видах-хозяевах. Изоляты с видов *Ae. tauschii* и *T. monococcum* характеризовались более широким спектром вирулентности по сравнению с изолятами, выделенными с видов *Ae. sharonensis* и *Ae. caudata*.

6. Охарактеризована устойчивость к бурой ржавчине у 294 сортов озимой и 213 яровой пшеницы, включенных в Государственный реестр селекционных достижений. Установлено, что более 20% яровых сортов обладают ювенильной устойчивостью. С использованием молекулярных маркеров выявлено широкое распространение генов *Lr19* и *Lr9* у сортов яровой пшеницы (8,9% и 6,6% соответственно). Определено, что четверть из них несут *Lr*-гены, неидентичные известным эффективным генам устойчивости. У 20% озимых сортов полевая устойчивость к бурой ржавчине варьировала от высокой до умеренной. У большинства устойчивых в полевых условиях озимых сортов выявлены разные сочетания малоэффективных генов и гена частичной устойчивости *Lr34*.

7. Все изоляты, вирулентные к *Lr9* и *Lr19*, характеризуются авирулентностью к *Lr26*. Сочетание этих генов рекомендуется для использования в селекционном процессе. Высокой эффективностью во всех регионах РФ характеризовались гены *Lr29*, *Lr41*, *Lr42*, *Lr45*, *Lr47*, *Lr50*, *Lr51*, *Lr53* и *Lr57*.

8. На основании комплексного подхода с использованием фитопатологических и молекулярных методов охарактеризованы микроэволюционные процессы в популяциях фитопатогенного гриба *P. triticina*. Выявлены изменения внутрипопуляционной структуры патогена, обусловленные расширением генетического разнообразия выращиваемых сортов пшеницы по устойчивости к бурой ржавчине. Основным фактором микроэволюции популяций *P. triticina* на территории РФ является изменчивость, обусловленная действием растения-хозяина. Слабая степень изоляции подтверждена между европейской и кавказской популяциями и высокая – между азиатской и европейской.

## СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

*Статьи, опубликованные в журналах, входящих в перечень международных реферативных баз данных и список ВАК РФ*

1. Gulyaeva E.I. Microsatellite analysis of *Puccinia triticina* from *Triticum* and *Aegilops* hosts / E.I. Gulyaeva, E.L. Shaydayuk, I.A. Kazartsev et al. // Australasian Plant Pathology. – 2018. – V.47(2). – P.163-170.
2. Гультяева Е.И. Генетическая структура российских и казахстанских популяций возбудителя бурой ржавчины *Puccinia triticina* Erikss. по вирулентности и SSR маркерам / Е.И. Гультяева, Е.Л. Шайдаюк, В.П. Шаманин и др. // Сельскохозяйственная биология. – 2018. – №1. – С.85-95.
3. Гультяева Е.И. Структура популяций листовых патогенов яровой пшеницы в западно-азиатских регионах России и Северном Казахстане в 2017 году / Е.И. Гультяева, Н.М. Коваленко, В.П. Шаманин и др. // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2018. – Т.22(3). – С.363-369.
4. Плотникова Л.Я. Тенденция преодоления генов устойчивости к бурой ржавчине, интрогрессированных от *Aegilops speltoides* Tausch. в мягкую пшеницу, в Западной Сибири / Л.Я.

- Плотникова, Л.В. Мешкова, **Е.И. Гультьева** и др. // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2018. – Т.22(3). – С.560-567.
5. **Гультьева Е.И.** Болезни зерновых культур на Северо-Западе в 2017 году / Е.И. Гультьева, Е.Л. Шайдаюк, Н.П. Шипилова и др. // Защита и карантин растений. – 2018. – №4. – С.19-21.
  6. **Гультьева Е.И.** Популяционно-генетическое исследование возбудителя бурой ржавчины пшеницы *Puccinia triticina* в Дагестане / Е.И. Гультьева, Е.Л. Шайдаюк, К.М. Абдуллаев // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 2018. – Т.179(2). – С.140-150.
  7. Потоцкая И.В. Исходный материал с геномом *Ae. tauschii* для селекции на расонеспецифическую устойчивость к бурой и стеблевой ржавчине // И.В. Потоцкая, В.П. Шаманин, В.Е. Пожерукова, **Е.И. Гультьева**, А.И. Моргунов // Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет). – 2018. – Т.48(3). – С.62-69.
  8. Шаманин В.П. Динамика вирулентности омской популяции *Puccinia triticina* / В.П. Шаманин, **Е.И. Гультьева**, Е.Л. Шайдаюк и др. // Вестник КрасГАУ. – 2018. – Вып.5. – С. 29-35.
  9. **Гультьева Е.И.** Структура азиатских популяций *Puccinia triticina* по вирулентности и микросателлитным маркерам / Е.И. Гультьева, М.К. Аристова, Е.Л. Шайдаюк, И.А. Казарцев // Микология и фитопатология. – 2017. – Т.51(1). – С.54-59.
  10. Сибикеев С.Н. Сравнительный анализ 6Agi и 6Agi2 хромосом *Agropyron intermedium* (Host) Beauv у сортов и линий мягкой пшеницы с пшенично – пырейными замещениями / С.Н. Сибикеев, Е.Д. Бадаева, **Е.И. Гультьева** и др. // Генетика. – 2017. – Т. 53(3). – С.298-309
  11. **Гультьева Е.И.** Генетическая дифференциация *Puccinia triticina* Erikss. по микросателлитным локусам на территории России / Е.И. Гультьева, М.К. Аристова, Е.Л. Шайдаюк и др. // Генетика. – 2017. – Т.53(9). – С.1053-1060.
  12. Тюнин В.А. Характеристика вирулентности популяций *Puccinia triticina* и перспективы использования генов *Lr24*, *Lr25*, *LrSp* в селекции яровой мягкой пшеницы на Южном Урале / В.А. Тюнин, Е.Р. Шрейдер, **Е.И. Гультьева**, Е.Л. Шайдаюк // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2017. – Т.21(5). – С.523-529.
  13. **Гультьева Е.И.** Фенотипический состав *Puccinia triticina* на образцах мягкой пшеницы в Омской области в 2016 году / Е.И. Гультьева, В.П. Шаманин, Е.Л. Шайдаюк // Вестник НГАУ. – 2017. – №2(43). – С.16-23.
  14. **Гультьева Е.И.** Болезни зерновых культур и рапса в Северо-Западном регионе в 2016 г. / Е.И. Гультьева, Е.Л. Гасич, М.М. Левитин и др. // Защита и карантин растений. – 2017. – №4. – С.27-29.
  15. **Гультьева Е.И.** Структура популяций *Puccinia triticina* на тетраплоидных видах пшеницы / Е.И. Гультьева, Е.Л. Шайдаюк, И.А. Казарцев // Микология и фитопатология. – 2017. – Т.51(5). – С.299-304.
  16. **Гультьева Е.И.** Внутривидовая изменчивость *Puccinia triticina* на гексаплоидных видах *Triticum* и *Aegilops trivialis* / Е.И. Гультьева, Е.Л. Шайдаюк, И.А. Казарцев // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2017. – Т.21(6). – С.671-676.
  17. **Gulytaeva E.I.** Virulence of *Puccinia triticina* on *Triticum* and *Aegilops* species / E.I. Gulytaeva, E.L. Shaydayuk, N.P. Goncharov et al. // Australasian Plant Pathology. – 2016. – V.45(2). – P.155-163.
  18. **Гультьева Е.И.** Фитосанитарный мониторинг болезней пшеницы в Северо-Западном регионе в 2015 г. / Е.И. Гультьева, Е.Л. Шайдаюк, Н.П. Шипилова и др. // Защита и карантин растений. – 2016. – №4. – С.29-31.
  19. **Гультьева Е.И.** Полиморфизм гриба *Puccinia triticina* по вирулентности и микросателлитным локусам на видах пшеницы и эгилопс / Е.И. Гультьева, Е.Л. Шайдаюк, М.К. Аристова, И.А. Казарцев // Вестник защиты растений. – 2016. – №3(89). – С.54-56.
  20. **Гультьева Е.И.** Структура популяций *Puccinia triticina* в европейских регионах России / Е.И. Гультьева, Е.Л. Шайдаюк, М.К. Аристова, И.А. Казарцев // Вестник защиты растений. – 2016. – №3(89). – С.56-57.
  21. **Гультьева Е.И.** Структура популяций гриба *Puccinia triticina* на сортах и селекционных линиях мягкой пшеницы на опытном поле Омского ГАУ в 2013–2015 годах / Е.И. Гультьева, В.П. Шаманин, Е.Л. Шайдаюк и др. // Вестник Омского ГАУ. – 2016. – №2 (22). С.20-25.
  22. Sadovaya A. S. Leaf rust resistance in common wheat varieties and lines from the collection of the Vavilov Plant Industry Institute carrying alien genetic material / A. S. Sadovaya, **E. I. Gulytaeva**, O. P. Mitrofanova et al. // Russian Journal of Genetics: Applied Research. – 2015. – V.5(3). P. 233-241.

23. Шаманин В.П. Мониторинг вирулентности популяций гриба *P. triticina* на опытном поле ОмГАУ / В.П. Шаманин, **Е.И. Гультяева**, Е.Л. Шайдаюк и др. // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2015. – № 5(127). – С.70-75.
24. **Гультяева Е.И.** Структура российских популяций гриба *Puccinia triticina* Eriks / Е.И. Гультяева, Е.Л. Шайдаюк, И.А. Казарцев, М.К. Аристова // Вестник защиты растений. – 2015.- №3(85). – С.5-10.
25. **Гультяева Е.И.** Эффективность молекулярных маркеров для выявления генов *Lr35*, *Lr28* и *Lr47* у мягкой пшеницы / Е.И. Гультяева, А.С. Орина, Ф.Б. Ганнибал и др. // Генетика. – 2014. – Т.50(2). – С.147-156.
26. **Гультяева Е.И.** Молекулярно-генетический скрининг новых российских сортов мягкой пшеницы по устойчивости к бурой ржавчине / Е.И. Гультяева, А.С. Садовая, Е.Л. Шайдаюк // Вестник защиты растений. – 2014. – №1. – С.26-29.
27. Глинушкин А.П.. Характеристика сортов и линий мягкой пшеницы, выращиваемых в зоне Южного Урала, по устойчивости к возбудителю бурой ржавчины / А.П. Глинушкин, **Е.И. Гультяева** // Достижения науки и техники АПК. – 2014. – №3. – С.51-54.
28. Шаманин В.П. Вирулентность *Puccinia triticina* на сортах и селекционных линиях мягкой пшеницы на опытном поле ОмГАУ в 2013 году / В.П. Шаманин, **Е.И. Гультяева**, Е.Л. Шайдаюк и др. // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2014. – № 6(116). –С.36-42.
29. **Гультяева Е.И.** Селекция на устойчивость к бурой ржавчине в России / Е.И. Гультяева, А.С. Садовая // Защита и карантин растений. – 2014. – №10. – С.24-26.
30. Садовая А.С. Характеристика устойчивости к возбудителю бурой ржавчины сортов и линий мягкой пшеницы из коллекции ВИР, несущих чужеродный генетический материал / А.С. Садовая, **Е.И. Гультяева**, О.П. Митрофанова и др. // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2014. – Т.18(4/1). – С.739-750.
31. **Гультяева Е.И.** Идентификация генов устойчивости к бурой ржавчине у интрогрессивных сортов и линий мягкой пшеницы, созданных в НИИСХ Юго-Востока / Е.И. Гультяева, О.В. Иванова, Т.С. Маркелова, С.Н. Сибикеев // Вестник защиты растений. – 2012. – №1. – С. 38-44.
32. Зеленева Ю.В. Идентификация *Lr*-генов у образцов мягкой пшеницы устойчивых к возбудителю бурой ржавчины в условиях ЦЧР с использованием ДНК-маркеров / Ю.В. Зеленева, **Е.И. Гультяева**, В.В. Плахотник // Вестник защиты растений. – 2013. – №3. – С.37-39.
33. Шаманин В. П. Идентификация генов устойчивости к бурой ржавчине у линий яровой мягкой пшеницы с помощью молекулярных маркеров / В. П. Шаманин, **Е. И. Гультяева**, И. В. Поточкая, С. Л. Петуховский // Вестник НГАУ (Новосибирского государственного аграрного университета). – 2013. – №2(27). – С.43-49.
34. **Gulytaeva E.I.** Regional diversity of Russian populations of *Puccinia triticina* in 2007 / E.I. Gulytaeva, A.P. Dmitriev, E. Kosman // Canadian J. Plant Pathology. – 2012. – V.34(2). – P.213-224.
35. **Гультяева Е.И.** Генетическое разнообразие российских сортов мягкой пшеницы по устойчивости к возбудителю бурой ржавчины / Е.И. Гультяева // Доклады Россельхозакадемии. – 2012. – №2. – С.29-32.
36. **Гультяева Е.И.** Структура популяций *Puccinia triticina* по вирулентности и ДНК-маркерам в Северо-Западном регионе РФ в 2007 году / Е.И. Гультяева, Е. Косман, А.П. Дмитриев, О.А. Баранова // Микология и фитопатология. – 2011. – Т.45(1). – С.70-81.
37. **Гультяева Е.И.** Устойчивость к бурой ржавчине сортов пшеницы, испытываемых на госсортоучастках Северо-запада РФ/ Е И. Гультяева, Н.В. Алпатьева // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 2011. – Т.168. – С.95-106.
38. **Гультяева Е.И.** Идентификация генов устойчивости к бурой ржавчине у сортов пшеницы с использованием молекулярных маркеров / Е.И. Гультяева, Г.В. Волкова // Вестник защиты растений. – 2009. – №3. – С.32-36.
39. **Гультяева Е.И.** Молекулярные подходы в идентификации генов устойчивости к бурой ржавчине у российских сортов пшеницы / Е.И. Гультяева, И.А. Канюка, Н.В. Алпатьева и др. // Доклады РАСХН. – 2009 – №5. – С.23-26.
40. **Гультяева Е.И.** Вирулентность и структура популяций *Puccinia triticina* в Российской Федерации в 2007 году / Е.И. Гультяева, О.А. Баранова, А.П. Дмитриев // Вестник защиты растений. – 2009. – №4. – С.33-38.

41. Гультяева Е.И. Фитосанитарная ситуация на посевах зерновых культур в Северо-Западном регионе / Е.И. Гультяева, М.М. Левитин, Н.Ф. Семенякина, Н.В. Никифорова // Защита и карантин растений. – 2008. – №5. – С.50-52.
42. Lind V. Virulence of *Puccinia triticina* on winter wheat in Germany and the European regions of Russian Federation / V. Lind, Е. Gulyaeva // J. Phytopathology. – 2007. – V.155(1). – P.13–21.
43. Гультяева Е.И. Болезни зерновых культур в Северо-Западном регионе России / Е.И. Гультяева, М.М. Левитин, Н.Ф. Семенякина и др. // Защита и карантин растений. – 2007. – №6. – С.15-16.
44. Тырышкин Л.Г. Идентификация эффективных генов устойчивости пшеницы *Triticum aestivum* к бурой ржавчине с помощью STS маркеров / Л.Г. Тырышкин, Е.И. Гультяева, Н.В. Алпатьева, И. Крамер И. // Генетика. – 2006. – Т.42(6). – С.812-817.
45. Ишкова Т.И. Грибные болезни зерновых культур на Северо-западе / Т.И. Ишкова, Е.И. Гультяева, М.М. Левитин // Защита и карантин растений. – 2004. – №12. – С.15-18.
46. Mikhailova L. Sources and donors of resistance to wheat spot blotch caused by *Bipolaris sorokiniana* Shoem. (*Cochliobolus sativus* Dechs. And Dastur.) / L. Mikhailova, Sun Lianfa, S. Gogoleva, Е. Gulyaeva // Archives of Phytopathology and Plant Protection. – 2004. – V.37. – P.161-167.
47. Gulyaeva E. Comparison of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* populations in Germany, Austria, Russia and Ukraine in 2000 / E. Gulyaeva, L. Mikhailova, U. Walther, D. Kopahnke // PETRIA Giornale di Patologia delle Piante. – 2002. – V.12(1/2). – P.223-229.
48. Михайлова Л.А. Лабораторные методы культивирования возбудителя желтой пятнистости пшеницы *Pyrenophora tritici-repentis* / Л.А. Михайлова, Е.И. Гультяева, Н.М. Кокорина // Микология и фитопатология. – 2002. – Т.36(1). – С.63-67.
49. Михайлова Л.А. Взаимодействие штаммов *Bipolaris sorokiniana* и образцов пшеницы / Л.А. Михайлова, С.Г. Гоголева, Е.И. Гультяева // Микология и фитопатология. – 2002. – Т.36(2). – С.63-66.
50. Кържин Х. Сравнительная характеристика устойчивости гибридных линий озимой пшеницы ржавчине и мучнистой росе в разных экологических условиях / Х.Кържин, Л.А. Михайлова, Е.И. Гультяева // Сельскохозяйственная биология. – 2001. №3. – С.106-109.
51. Gulyaeva E. Virulence of *Puccinia recondita* Rob. ex Desm. f. sp. *tritici* in Germany and European part of Russia in 1996-1999 / E. Gulyaeva, U. Walther, D. Kopahnke, L. Mikhailova. // Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica. – 2000. – V.35. – №1-4. – P.409-413.

#### Статьи в других журналах

52. Тюнин В.А. Вирулентность возбудителя бурой ржавчины пшеницы на Южном Урале / В.А. Тюнин, Е.Р. Шрейдер, Е.И. Гультяева, Е.Л. Шайдаюк // Вестник защиты растений. – 2018. – №1(95). – С.12-16.
53. Гультяева Е.И. Молекулярно-генетические подходы в изучении популяций возбудителя бурой ржавчины пшеницы / Е.И. Гультяева, И.А. Казарцев // Вестник защиты растений. – 2018. – №2(96). – С.5-12.
54. Гультяева Е.И. Полиморфизм казахстанских популяций гриба *Puccinia triticina* Eriks. по вирулентности и SSR-маркерам / Е.И. Гультяева, А.К. Ахметова, М.К. Карабаев // Сельскохозяйственные науки и агропромышленный комплекс на рубеже веков. – 2016. – №13. – С.14-19
55. Гультяева Е.И. Характеристика устойчивости к бурой ржавчине сортов пшеницы, выращиваемых в России / Е.И. Гультяева, Н.В. Алпатьева, Э.А. Власова, О.В. Климентьева // Лаборатория микологии и фитопатологии им. А.А.Ячевского ВИЗР. История и современность. – 2007. – СПб, ВИЗР. – С.119-130.
56. Gulyaeva E.I. *Triticum spelta* L. as a source of new genes of resistance to wheat leaf rust (*Puccinia recondita* Rob. ex Desm. f. sp. *tritici*) / E.I. Gulyaeva, L.A. Mikhailova, E.S. Karetnikova, N.A. Anpilova // Journal of Russian Phytopathological Society. – Moscow. – 2002 – №3. – P.61-64.
57. Mikhailova L.A. An attempt to review *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* populations in western and eastern Europe together with the Asian part of Russia / L.A. Mikhailova, Е.И. Gulyaeva, U. Walter, D. Kophanke // Journal of Russian Phytopathological Society. – Moscow. – 2002. – №3. – P.1-6.

#### Монографии, методические указания и главы в коллективных монографиях

58. Шпанев А.М. Система интегрированной защиты посевов озимой пшеницы от вредных организмов в Северо-Западном регионе РФ / А.М. Шпанев, А.Б. Лаптиева, Н.Р. Гончаров... Е.И.

Гультьева и др. // СПб. – 2017. – 48 с.

59. Павлюшин В.А. Интегрированная защита озимой пшеницы / В.А. Павлюшин, В.И. Долженко, А.М. Шпанев ... **Е.И. Гультьева** и др. // Приложение к журналу «Защита и карантин растений». – 2015. – № 5. – С. 37(1)-72(36).

60. **Гультьева Е.И.** Методы идентификации генов устойчивости пшеницы к бурой ржавчине с использованием ДНК-маркеров и характеристика эффективности *Lr*-генов. / Гультьева Е.И. // Санкт-Петербург. Россельхозакадемия:ВИЗР. – 2012. – 72 с.

61. **Гультьева Е.И.** Характеристика новых российских сортов мягкой пшеницы по устойчивости к бурой ржавчине и идентификация у них *Lr*-генов / Е.И. Гультьева // Технологии создания и использования сортов и гибридов с групповой и комплексной устойчивостью к вредным организмам в защите растений, РАСХН: ВИЗР, СПб. – 2010. – С.139-153.

62. **Гультьева Е.И.** Тенденции изменчивости популяций *Puccinia triticina* под влиянием выращиваемых соросов пшеницы и эффективность *Lr*-генов в основных зернопроизводящих регионах РФ / Е.И. Гультьева, О.А. Баранова // Технология создания и использования сортов и гибридов с групповой и комплексной устойчивостью к вредным организмам в защите растений: СПб:РАСХН, Отделение защиты растений, ГНУ ВНИИЗР. – 2010. – С.26-48.

63. **Гультьева Е.И.** Ржавчинные болезни зерновых культур / Е.И. Гультьева, О.В. Солодухина // В кн. Изучение генетических ресурсов зерновых культур по устойчивости к вредным организмам. Методическое пособие. М. 2008. – С.5-31.

64. Антонова О.Ю. Молекулярная идентификация генов устойчивости / О.Ю. Антонова, **Е.И. Гультьева** // В кн. Изучение генетических ресурсов зерновых культур по устойчивости к вредным организмам. Методическое пособие. М. – 2008. – С.151-184.

65. Михайлова Л.А. Методы исследования структуры популяций возбудителя бурой ржавчины пшеницы *Puccinia recondita* Rob. ex Desm. f. sp. *tritici*. / Л.А. Михайлова, **Е.И. Гультьева**, Н.В. Мироненко //Иммуногенетические методы создания устойчивых к вредным организмам сортов. (Методические рекомендации). ВИЗР. – 2003. – 26 с.

66. Михайлова Л.А. Методы исследования структуры популяций возбудителя бурой ржавчины пшеницы *Puccinia recondita* Rob.ex Desm.f.sp.*tritici*./ Л.А. Михайлова, **Е.И. Гультьева**, Н.В. Мироненко // Иммуногенетические методы создания устойчивых к вредным организмам сортов. (Методические рекомендации). ВИЗР. – 2000. – 26 с.

67. Лоскутова Н.П. Каталог мировой коллекции ВИР. Выпуск 726. Озимая мягкая пшеница (Исходный материал для селекции на устойчивость к болезням в различных регионах России) / Н.П. Лоскутова, Л.А. Михайлова, **Е.И. Гультьева** // Санкт-Петербург: ВИР. – 2000. – 96 с.

68. Михайлова Л.А.. Методы исследования структуры популяций возбудителя бурой ржавчины пшеницы *Puccinia recondita* Rob.ex Desm.f.sp.*tritici* / Л.А. Михайлова, **Е.И. Гультьева**, Н.В. Мироненко //Сборник методических рекомендаций по защите растений, С-Пб. – 1998. – С.105-127.

#### **Материалы избранных конференций**

69. Шайдаюк Е.Л. Фитопатогенный комплекс на зерновых культурах в Ленинградской области в 2017 году / Е.Л. Шайдаюк, **Е.И. Гультьева**, Н.П. Шипилова, М.М. Левитин // Научное обеспечение развития АПК в условиях импортозамещения: сборник научных трудов. Ч. I. СПбГАУ. – СПб. – 2018. – С. 60-63.

70. Тюнин В.А. Создание селекционного материала яровой мягкой пшеницы, устойчивого к возбудителю бурой ржавчины, в условиях Южного Урала / В.А. Тюнин, Е.Р. Шрейдер, **Е.И. Гультьева** // Генофонд и селекция растений: материалы IV Международной научно-практической конференции (4–6 апреля 2018г., Новосибирск, Россия).– Новосибирск: ИЦиГ СО РАН. – 2018. – С.259-262.

71. Моргунов А.И. Устойчивые к болезням сорта пшеницы как генетическая основа для органического (биологического) производства зерна / А.И. Моргунов, А.И. Абугалиева, В.П. Шаманин, **Е.И. Гультьева** и др. // Генофонд и селекция растений: материалы IV Международной научно-практической конференции (4–6 апреля 2018г., Новосибирск, Россия).– Новосибирск: ИЦиГ СО РАН. – 2018. – С.218-221.

72. Шайдаюк Е.Л. Грибные болезни пшеницы на Северо-Западе России / Е.Л. Шайдаюк, **Е.И. Гультьева**, Н.П. Шипилова // Современная микология в России. Том 7. Материалы 4-го Съезда микологов России. М.: Национальная академия микологии. – 2017. – С.129-130.

73. Шайдаюк Е.Л. Характеристика дербентской популяции *Puccinia triticina* по вирулентности / Е.Л. Шайдаюк, **Е.И. Гультяева**, К.М. Абдуллаев // «Развитие научного наследия Н.И. Вавилова по генетическим ресурсам его последователями». Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием посвященная 80-летию Куркиева У. К.: материалы докладов, сообщений. Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, Филиал Дагестанская опытная станция ВИР, Дагестанский государственный аграрный университет им. М.М. Джамбулатова. – 2017. – С.323-327.
74. **Гультяева Е.И.** Актуальность исследований популяций *Puccinia triticina* для селекции пшеницы на устойчивость к бурой ржавчине / Е.И. Гультяева, Е.Л. Шайдаюк // Идеи Н.И. Вавилова в современном мире. Тезисы докладов IV Вавиловской международной конференции. 20-24 ноября 2017 г. – СПб. – 2017. – С.75.
75. **Гультяева Е.И.** Ржаные транслокации у сортов мягкой пшеницы, включенных в Государственный реестр селекционных достижений / Е.И. Гультяева // Тезисы докладов III Международной конференции «Генофонд и селекция растений». Новосибирск, 28-30 марта 2017 г. – 2017. – С. 17-18.
76. Ахметова А. Исследования казахстанских популяций возбудителя бурой ржавчины пшеницы / А. Ахметова, **Е.И. Гультяева** // Земледелие и селекция сельскохозяйственных растений на современном этапе «Международная научно-практическая конференция, посвященная 60-летию НПЦ зернового хозяйства им. А.И. Бараева». 9-10.08.2016 г. – Казахстан. Астана-Шортанды. – 2016. – Т.1 – С.363-367.
77. **Гультяева Е.И.** Структура популяций *Puccinia triticina* Erikss. на мягкой и твердой пшенице / Е.И. Гультяева, А.К. Ахметова, Е.Л. Шайдаюк, М.К. Аристова // Земледелие и селекция сельскохозяйственных растений на современном этапе. «Международная научно-практическая конференция, посвященная 60-летию НПЦ зернового хозяйства им. А.И. Бараева». 9-10.08.2016 г. – Казахстан. Астана-Шортанды. – 2016 – Т.II. – С. 309-313.
78. **Гультяева Е.И.** Идентификация генов устойчивости к бурой ржавчине у российских сортов мягкой пшеницы / Е.И. Гультяева // Сборник тезисов Всероссийской конференции "50 лет ВОГиС: успехи и перспективы", Москва, 8-10 ноября 2016 г. – 2016. – С.137.
79. **Гультяева Е.И.** Разнообразие российских сортов мягкой пшеницы по генам устойчивости к бурой ржавчине / Е.И. Гультяева // Материалы IV Международной конференции «Современные проблемы иммунитета растений к вредным организмам». 11-13 октября 2016 г. СПб-Пушкин. – 2016. – С. 27.
80. **Гультяева Е.И.** Структура российских популяций возбудителя бурой ржавчины по микросателлитным маркерам / Е.И. Гультяева, М.К. Аристова, Е.Л. Шайдаюк, И.А. Казарцев // Материалы IV Международной конференции «Современные проблемы иммунитета растений к вредным организмам». 11-13 октября 2016 г. – СПб-Пушкин. – 2016. – С. 107.
81. **Гультяева Е.И.** Полиморфизм изолятов *Puccinia triticina* по вирулентности и микросателлитным локусам на линиях пшеницы, созданных с участием *Triticum timopheevii* Zhuk. / Е.И. Гультяева, Е.Л. Шайдаюк, М.К. Аристова // Материалы IV Международной конференции «Современные проблемы иммунитета растений к вредным организмам». 11-13 октября 2016 г. – СПб-Пушкин. – 2016. – С. 106.
82. Тюнин В.А. Генетическая обусловленность селекции пшеницы на устойчивость к бурой ржавчине на Южном Урале / В.А. Тюнин, Е.Р. Шрейдер, **Е.И. Гультяева**, Е.Л. Шайдаюк // Материалы IV Международной конференции «Современные проблемы иммунитета растений к вредным организмам». 11-13 октября 2016 г. – СПб-Пушкин. – 2016. – С. 44.
83. Тюнин В.А. Вирулентность популяций *Puccinia triticina* на Южном Урале в 2016 году / В.А. Тюнин, Е.Р. Шрейдер, **Е.И. Гультяева** и др. // Современная микология в России. Том 7. Материалы 4-го Съезда микологов России. – М.: Национальная академия микологии. – 2016. – С.107-108.
84. **Гультяева Е.И.** Полиморфизм изолятов *Puccinia triticina* Erikss. по вирулентности и микросателлитным локусам на образцах *Aegilops tauschii* Coss / Е.И. Гультяева, Е.Л. Шайдаюк // Современная микология в России. Материалы 4-го Съезда микологов России. Т.6. – М.: Национальная академия микологии. – 2016. – С.23-25.
85. **Gulytaeva E.** Virulence of *Puccinia triticina* Eriks. on *Triticum* and *Aegilops* species / E. Gulytaeva, E. Shaydayuk, E. Kosman et al. // Abstracts 14th International cereal rusts and powdery mildews



- conference. Helsingor-Denmark, 5-8 July 2015. EMCRF The European and Mediterranean Cereal Rusts Foundation, Aarhus University. – 2015. – P. 82-83.
- 86. Gulyaeva E.** Comparison of *Puccinia triticina* Eriks populations from the Northwest of Russia and Northern Kazakhstan for virulence and SSR-markers / E. Gulyaeva, A. Akhmetova, E. Shaydayuk et al. // Abstracts 14th International cereal rusts and powdery mildews conference. Helsingor-Denmark, 5-8 July 2015. EMCRF The European and Mediterranean Cereal Rusts Foundation, Aarhus University. – 2015. – P. 84-85.
- 87. Gulyaeva E.** Wheat leaf rust resistance breeding in Russia / E. Gulyaeva // Abstracts 14th International cereal rusts and powdery mildews conference. Helsingor-Denmark, 5-8 July 2015. EMCRF The European and Mediterranean Cereal Rusts Foundation, Aarhus University. – 2015. – P.116-117.
- 88. Гультьева Е.И.** Вирулентность гриба *Puccinia triticina* Eriks. на гексаплоидных видах пшеницы и эгилопс / Е.И. Гультьева, Е.Л. Шайдаюк // Материалы Всероссийской конференции с международным участием «Биоразнообразии и экология грибов и грибоподобных организмов северной Евразии», Екатеринбург, 20–24 апреля 2015 г. – Екатеринбург, Изд-во Уральского университета, - 2015. – С.69-72.
- 89. Гультьева Е.И.** Полиморфизм российских изолятов гриба *Puccinia triticina* Eriks по вирулентности / Е.И. Гультьева, Е.Л. Шайдаюк // Материалы Всероссийской конференции с международным участием «Биоразнообразии и экология грибов и грибоподобных организмов северной Евразии», Екатеринбург, 20–24 апреля 2015 г.- Екатеринбург, Изд-во Уральского университета. – 2015. – С.66-69.
- 90. Гультьева Е.И.** Вирулентность гриба *Puccinia triticina* Eriks. на тетраплоидных видах пшеницы / Е.И. Гультьева, Е.Л. Шайдаюк, Е. Косман и др. // Современная микология в России. Материалы III Международного микологического форума. Сельскохозяйственная микология. – 2015. – Том. 5. – Вып. 4. – С. 58-60.
- 91. Шайдаюк Е.Л.** Полиморфизм популяций *Puccinia triticina* по вирулентности и SSR-маркерам в Северо-Западном регионе РФ / Е.Л. Шайдаюк, **Е.И. Гультьева** // Современная микология в России. Материалы III Международного микологического форума. Сельскохозяйственная микология. – 2015. – Том. 5. – Вып. 4. – С. 122-123.
- 92. Гультьева Е.И.** Успехи проблемы в селекции на устойчивость к бурой ржавчине в России / Е.И. Гультьева //Материалы «Международной конференции по биологии и биотехнологии растений» 28-30 мая 2014 г. – Алматы, Казахстан, ИББР. – 2014. – С.302.
- 93. Садовая А.С.** Устойчивость мягкой пшеницы к бурой ржавчине: характеристика образцов с чужеродными генами / А.С. Садовая, **Е.И. Гультьева**, Е.Л. Шайдаюк и др. // Международная научная конференция «Генетические ресурсы растений - основа продовольственной безопасности и повышения качества жизни» посвященная 120-летию основания Всероссийского научно-исследовательского института растениеводства им. Н. И. Вавилова. Тезисы докладов. Санкт-Петербург, ВИР, 6–8 октября 2014 г. – 2014. – С.88.
- 94. Гультьева Е.И.** Современное состояние исследований возбудителя бурой ржавчины в лаборатории Микологии и фитопатологии ВИЗР / Е.И. Гультьева // Материалы конференции «Проблемы микологии и фитопатологии в XXI веке», Санкт-Петербург, 2-4 октября 2013. – 2013. – С.67-70.
- 95. Гультьева Е.И.** Характеристика новых российских сортов пшеницы, рекомендуемых к выращиванию в РФ, по устойчивости к возбудителю бурой ржавчины / Е.И. Гультьева, Е.Л. Шайдаюк, А.А. Долбиева, А.С. Садовая // Третий Всероссийский съезд по защите растений Санкт-Петербург, 16-20 декабря 2013 г. «Фитосанитарная оптимизация агроэкосистем». Материалы съезда в трех томах. Том I. – Санкт –Петербург. – 2013. – С. 391-393.
- 96. Гультьева Е.И.** Динамика изменчивости российских популяций *Puccinia triticina* в 2001-2011 годах / Е.И. Гультьева // Современная микология в России. Материалы 3-го Съезда микологов России. Том 3. М.: Национальная академия микологии. – 2012. – С. 183.
- 97. Гультьева Е.И.** Селекция пшеницы на устойчивость к бурой ржавчине в России / Е.И. Гультьева // Третья Всероссийская и международная конференция «Современные проблемы иммунитета растений к вредным организмам» (Посвящается 125-летию со дня рождения Н.И. Вавилова). Санкт-Петербург, 23-26 октября 2012 г. – 2012. – С.208-212.
- 98. Гультьева Е.И.** Молекулярный скрининг мягкой пшеницы и ее близкородственных видов на наличие генов *Lr35/Sr39* и *Lr47* / Е.И. Гультьева, А.С. Орина, Ф.Б. Ганнибал Ф.Б. и др. // III

- Вавиловская международная конференция «Идеи Н.И. Вавилова в современном мире» 6-8 ноября 2012 г. Санкт-Петербург. Тезисы докладов. – СПб. – 2012. – С.88.
- 99.** Левитин М.М. Устойчивость зерновых культур к грибным болезням на Северо-западе России / М.М. Левитин, **Е.И. Гультяева** // Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 125-летию со дня рождения Н.И. Вавилова «Иммуногенетическая защита сельскохозяйственных культур от болезней: теория и практика. Большие Вяземы, Московской области, 17-21 июля 2012 г. – Большие Вяземы. – 2012. – С.241-249.
- 100.** **Gulyaeva E.** Population structure of *Puccinia triticina* in Russia during 2007, as assessed by virulence and molecular markers / E. Gulyaeva, E. Kosman, A. Dmitriev, O. Baranova // Abstracts of oral and poster presentations of 8th International wheat conference. June 1-4, 2010, St. Petersburg, Russia. – 2010. – P. 258-259.
- 101.** **Gulyaeva E.** Characterization of *Puccinia triticina* populations from Russia in 2007 for virulence and DNA markers / E. Gulyaeva, O. Baranova // 12 International Cereal Rusts and Powdery Mildews Conference/ October 13-16, 2009. – Antalya – Turkey. Abstract book. – 2009. – P. 110.
- 102.** **Gulyaeva E.** Occurrence of leaf rust resistance genes in Russian wheat varieties and their influence on virulence frequencies in the pathogen population / E. Gulyaeva, O. Baranova, N. Alpatyeva, I. Krämer // 12 International Cereal Rusts and Powdery Mildews Conference/ October 13-16, 2009. Abstract book. – Antalya – Turkey.– 2009. – P. 89.
- 103.** **Гультяева Е.И.** Молекулярная идентификация генов устойчивости к бурой ржавчине у сортов мягкой пшеницы районированных в Российской Федерации / Е.И. Гультяева, Г.В.Стойко, Н.В. Алпатьева, О.А. Баранова // Вторая Всероссийская конференция «Современные проблемы иммунитета растений к вредным организмам» Санкт-Петербург, 29 сентября–2 октября 2008 г., СПб., – 2008. – С. 122-125.
- 104.** **Гультяева Е.И.** Молекулярные подходы в реализации стратегий районирования устойчивых к болезням сортов пшеницы / Е.И. Гультяева, Г.В. Стойко, О.А. Баранова // IV международный конгресс «Зерно и хлеб России», 11-13 ноября 2008 г., Санкт-Петербург. – 2008. – С.56-57.
- 105.** **Gulyaeva E.I.** Wheat leaf rust survey in Russia in 2001-2006 / E.I. Gulyaeva // XV Congress of European Mycologists: Abstracts. St-Petersburg-Russia, September 16-21, 2007. – St. Petersburg, 2007. – P.252.
- 106.** Левитин М.М. Фитосанитарное состояние зерновых культур на Северо-Западе России и генетические ресурсы для обеспечения этой зоны болезнеустойчивыми сортами / М.М. Левитин, **Е.И. Гультяева**, Т.И. Ишкова // Официальный каталог II международного конгресса "Зерно и хлеб России", 8-10 ноября 2006, Санкт-Петербург. – 2006. – С.109-110.
- 107.** **Гультяева Е.И.** Фитосанитарный мониторинг болезней зерновых культур в северо-западных областях Российской Федерации / Е.И. Гультяева, Т.И. Ишкова, М.М. Левитин // Фитосанитарное оздоровление экосистем. Материалы Второго Всероссийского съезда по защите растений. Санкт-Петербург, 5-10 декабря 2005 г. – Т.1. – 2005. – С.25-28.
- 108.** **Гультяева Е.И.** Вирулентность популяций *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* в Северо-западном регионе РФ в 2001-2003 годах / Е.И. Гультяева // Биологическая защита растений – основа стабилизации агроэкосистем (Материалы докладов международной научно-практической конференции). 29 сентября – 1 октября 2004 г. – Краснодар, 2004. – С.120-121.
- 109.** **Gulyaeva E.** Comparison of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* populations in Germany, Austria, Russia and Ukraine in 2000 / E. Gulyaeva, L.Mikhailova, U. Walther, D. Kopahnke // PETRIA Giornale di Patologia delle Piante (Proceedings of Conference "Sustainable systems of cereal crop protection against fungal diseases as the way of reduction of toxin occurrence in food webs", Kromeriz, Czech Republic, 3-6 July, 2001. – 2002. – V.12(1/2). – P.223-229.
- 110.** Михайлова Л.А. Изменчивость по вирулентности и ареалы популяций возбудителя бурой ржавчины пшеницы *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* / Л.А. Михайлова, **Е.И. Гультяева** // Современная микология в России. (Первый съезд микологов). Тезисы докладов. Москва, 11-13 апреля 2002 г. – 2002. – С.198-199.
- 111.** **Гультяева Е.И.** Создание коллекции источников устойчивости к бурой ржавчине для использования в практической селекции / Е.И. Гультяева, Н.П. Лоскутова // Первая Всероссийская конференция по иммунитету растений к болезням и вредителям. С-Пб. – 2002. – С.160-161.