

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений»

На правах рукописи

Шайдаюк
Екатерина Львовна

СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИЙ *PUCCINIA TRITICINA*
НА ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЕ В РОССИИ

Шифр и наименование специальности
03.02.12 - микология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
Гультяева Елена Ивановна
доктор биологических наук

Санкт-Петербург, 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ИССЛЕДОВАНИЯ ПОПУЛЯЦИЙ ВОЗБУДИТЕЛЯ БУРОЙ РЖАВЧИНЫ ПШЕНИЦЫ НА ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЕ В РОССИИ И ЗА РУБЕЖОМ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	10
1.1 Характеристика возбудителя бурой ржавчины пшеницы	12
1.2 <i>Triticum durum</i> как растение - хозяин для возбудителя бурой ржавчины.....	15
1.3 Популяционно-генетические исследования <i>Puccinia triticina</i> на твердой пшенице.....	19
1.3.1 Изучение популяций <i>Puccinia triticina</i> по признаку вирулентности...	19
1.3.2 Молекулярно-генетические подходы в изучении популяций <i>Puccinia triticina</i> на твердой пшенице.....	27
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	
2.1 Материал исследований.....	32
2.2 Методы изучения популяций <i>Puccinia triticina</i>	36
2.2.1 Анализ вирулентности	36
2.2.2.2 Проведение микросателлитного анализа.....	39
2.2.3 Статистическая обработка результатов	43
2.3 Фитопатологические методы изучения устойчивости сортов твердой пшеницы.....	45
2.4 Использование ДНК-маркеров для идентификации <i>Lr</i> -генов у образцов твердой пшеницы.....	47
ГЛАВА 3. СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИЙ <i>PUCCINIA TRITICINA</i> НА ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЕ ПО ПРИЗНАКУ ВИРУЛЕНТНОСТИ	49
3.1 Вирулентность и фенотипический состав <i>Puccinia triticina</i> в Северо-Кавказском регионе.....	49
3.2 Вирулентность и фенотипический состав <i>Puccinia triticina</i> в Средневолжском регионе.....	54
3.3 Вирулентность и фенотипический состав <i>Puccinia triticina</i> в Уральском регионе.....	56
3.4 Вирулентность и фенотипический состав <i>Puccinia triticina</i> в Западно-Сибирском регионе.....	58
3.5 Вирулентность и фенотипический состав <i>Puccinia triticina</i> в Южном Казахстане.....	60
3.6 Структура популяций <i>Puccinia triticina</i> на твердой пшенице по признаку вирулентности в 2017-2019 годах (обобщение).....	61
3.7 Сравнительный анализ вирулентности и фенотипического состава <i>Puccinia triticina</i> на мягкой и твердой пшенице.....	65
Глава 4. ПОЛИМОРФИЗМ ПОПУЛЯЦИЙ <i>PUCCINIA TRITICINA</i> НА ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЕ ПО МИКРОСАТЕЛЛИТНЫМ ЛОКУСАМ.....	68

ГЛАВА 5. ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ОБРАЗЦОВ ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЫ	74
5.1 Исследования устойчивости образцов яровой твердой пшеницы в фазе проростков.....	74
5.2 Идентификация генов устойчивости у образцов твердой пшеницы.....	80
ГЛАВА 6. ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИЙ <i>RUSSINIA TRITICINA</i> НА ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЕ В РОССИИ	82
Заключение.....	89
Список литературы.....	91
Список сокращений.....	110
Приложение А.....	111
Приложение Б.....	113

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность. Твердая пшеница (*Triticum durum* Desf.) – одна из древнейших продовольственных культур. В Российской Федерации она возделывается в Поволжье, Зауралье, Западной Сибири и на Северном Кавказе (Розова, Зиборов, 2015; Гончаров, Курашов, 2018; Романенко и др., 2018). Благодаря диетическим и питательным свойствам муки ей отдают предпочтение в макаронном производстве и некоторых других пищевых отраслях.

Одним из факторов, способствующих недобору урожая твердой пшеницы, является поражение ее болезнями. Бурая ржавчина одно из распространенных заболеваний твердой пшеницы во всех регионах ее выращивания (Fernandez, Кнох, 2012). Возбудителем ее является биотрофный патоген *Puccinia triticina* Erikss., который поражает мягкую, твердую пшеницу, другие виды *Triticum*, *Aegilops* и злаковые травы. До недавнего времени считалось, что вид *T. durum* более устойчив к бурой ржавчине по сравнению с *T. aestivum* L. (Вавилов, 1964; Дорофеев и др., 1987). Актуальность для твердой пшеницы заболевание приобрело в 2000 годах, когда в ряде стран поразились сорта ранее устойчивые к бурой ржавчине (Huerta-Espino, Roelfs, 1989; Singh et al., 2004; Martinez et al. 2005; Ordoñez, Kolmer, 2007; Huerta-Espino et al., 2009; Goyeau et al. 2012). Эпифитотийное развитие болезни наблюдали в регионах выращивания *T. durum* в Северной и Южной Америке, в Западной Европе и Средиземноморье (Singh et al., 2004; Goyeau et al., 2006; Martinez et al., 2005). В России степень развития бурой ржавчины на твердой пшенице варьирует по годам и регионам (Евдокимов, 2006; Розова и др., 2015; Беляева и др., 2018; Юсов и др., 2018).

Популяции возбудителя бурой ржавчины, обитающие на твердой пшенице, охарактеризованы по признаку вирулентности и полиморфизму микросателлитных локусов во многих странах (Martinez et al., 2005; Ordoñez, Kolmer, 2007; Mantovani et al., 2010; Goyeau et al., 2012; Kosman et al., 2014). В России исследования популяций *P. triticina* на твердой пшенице по признаку вирулентности проводились ограниченно на Дагестанской опытной станции ВИР

в 1970-1980 гг. (Дмитриев и др., 1976; Берлянд-Кожевников и др., 1978; Михайлова, Метревели, 1986). Сведения о вирулентности патогена в других регионах РФ, где выращивается твердая пшеница, отсутствуют.

Степень разработанности темы. Анализ литературы, посвященной данной проблеме, показал высокую актуальность популяционно-генетических исследований *P. triticina* на твердой пшенице за рубежом (Goyeau et al., 2012; Bhardwaj et al., 2013; Liu et al., 2014; Kolmer, 2015; Kolmer et al., 2019). Перманентный анализ позволил выявить патотипы с новыми аллелями вирулентности (Bhardwaj et al., 2013; Kolmer, 2015). Охарактеризована комплексная динамика изменчивости популяций *P. triticina* на твердой пшенице по вирулентности и микросателлитным локусам. Исследованы микроэволюционные процессы патогена на твердой пшенице с использованием анализа нуклеотидной последовательности интрон-содержащих участков гена РНК-полимеразы (RPB2) и информативных для рода *Puccinia* SSR-локусов (Liu et al., 2014), а также метода геномного генотипирования (секвенирование ДНК ассоциированной с сайтами рестрикции (RADseq)) (Kolmer et al., 2019).

Очевидный прогресс в расширении посевных площадей твердой пшеницы в России (Гончаров, Курашов, 2018) предопределяет актуальность проведения популяционных исследований *P. triticina*.

Цель работы – охарактеризовать генетическую структуру популяций возбудителя бурой ржавчины на твердой пшенице по признаку вирулентности и микросателлитным маркерам.

Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи:

- 1) Изучить структуру популяций возбудителя бурой ржавчины на твердой пшенице в географически отдаленных регионах России по признаку вирулентности.
- 2) Оценить полиморфизм микросателлитных локусов у изолятов *P. triticina* широкого географического происхождения.
- 3) Сравнить структуру российских популяций *P. triticina* на твердой пшенице со структурой на мягкой пшенице.

- 4) Оценить устойчивость образцов твердой пшеницы к популяциям *P. triticina* с твердой и мягкой пшеницы.
- 5) Охарактеризовать молекулярно-генетическую структуру популяций *P. triticina* на твердой пшенице в России.

Научная новизна исследований

Впервые в России с привлечением анализа вирулентности и молекулярных маркеров изучена структура популяций *P. triticina* на твердой пшенице.

Охарактеризованы вирулентность и расовый состав популяций патогена в географически отдаленных регионах РФ. Выявлены различия по признаку вирулентности между северокавказскими популяциями патогена и волжскими, уральскими и западносибирскими.

Изучен полиморфизм микросателлитных локусов у изолятов *P. triticina* из географически отдаленных регионов РФ. С использованием молекулярных маркеров установлена дифференциация российских популяций возбудителя бурой ржавчины на твердой пшенице на европейскую и азиатскую.

Выявлены различия по вирулентности у изолятов *P. triticina* на твердой и мягкой пшенице. Устойчивость образцов твердой пшеницы при инокуляции изолятами патогена с твердой и мягкой пшеницы существенно варьирует. Инфекционный материал с *T. durum* более вирулентен для сортов и линий твердой пшеницы, чем с мягкой.

Теоретическая значимость работы

Результаты комплексных исследований привнесли новые знания в популяционную биологию биотрофного гриба *P. triticina*. Подобные исследования на твердой пшенице в России ранее не проводились. Сравнительный анализ структуры популяций патогена на твердой и мягкой пшенице позволил уточнить микроэволюционные процессы, происходящие в популяциях *P. triticina*. Охарактеризованы вирулентность и молекулярный полиморфизм популяций, структура их распределения на территории России, генетический дрейф и происхождение.

Практическая значимость работы

Результаты исследований популяций *P. triticina* могут быть использованы в селекции на устойчивость твердой пшеницы к бурой ржавчине. Информация о вирулентности патогена в географически отдаленных регионах России предполагает рациональное размещение новых генетически защищенных сортов.

Методология и методы исследований

Методологическая основа исследований базируется на разработанных в ВИЗР подходах изучения популяций фитопатогенных грибов (Левитин и др., 2019). Методически работа включает традиционные фитопатологические методы изучения структуры популяций фитопатогенов и дополнена использованием молекулярных маркеров.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Популяции *P. triticina* различаются по частотам вирулентности и фенотипическому составу в зонах выращивания озимой (Северо-Кавказский регион) и яровой (Поволжье, Южный Урал, Западная Сибирь) твердой пшеницы в России. Высоким сходством по вирулентности характеризуются северокавказские образцы популяций – краснодарские, дагестанские и ростовские, и азиатские – челябинские, омские и алтайские. По признаку вирулентности российские популяции возбудителя бурой ржавчины подразделяются на европейские и азиатские.

2. С помощью микросателлитных маркеров подтверждена дифференциация российских популяций *P. triticina* на европейскую и азиатскую. С использованием SSR маркеров интенсивный генный поток определен внутри европейских и азиатских популяций, на что указывало высокое число общих генотипов. Между географически отдаленными европейской и азиатской популяциями выявлен умеренный генный поток.

3. Популяции *P. triticina* на твердой пшенице существенно отличаются по составу аллелей вирулентности от изолятов, собранных на мягкой пшенице. Сорта твердой пшеницы при инокуляции в фазе проростков сильнее поражаются изолятами патогена с твердой пшеницы, чем с мягкой.

Степень достоверности и апробация результатов работы

Работа проводилась в лаборатории микологии и фитопатологии ФГБНУ Всероссийского научно-исследовательского института защиты растений. Популяционные исследования патогена по признаку вирулентности и микросателлитным маркерам выполнены по Гос. заданиям ВИЗР и в рамках проектов РНФ №14-26-00067 и №19-76-30005.

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

Основные результаты работы представлены на 6 российских и международных конференциях: VIII Congress on Plant Protection (Zlatibor, Serbia, 25-29 ноября 2019 г., IV Всероссийский съезд по защите растений с международным участием «Фитосанитарные технологии в обеспечении независимости и конкурентоспособности АПК России» (Санкт-Петербург, 9-11 сентября, 2019 г.), IV (XII) Международная ботаническая конференция молодых учёных в Санкт-Петербурге (Санкт-Петербург, 22-28 апреля 2018 г.), «Микология и альгология России. XX - XXI век: смена парадигм» (Москва (МГУ), 17-19 ноября 2018 г.), Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Развитие научного наследия Н.И. Вавилова по генетическим ресурсам его последователями» (Дербент, 26-29 июня 2017 г.), 4 съезд микологов России (Москва, 2-14 апреля 2017 г.).

Личный вклад автора. Диссертационная работа является результатом исследований 2017-2019 гг., выполненных лично автором. Автор принимал участие на всех этапах работы, ему принадлежат формулирование проблемы, постановка цели и задач, планирование и проведение экспериментов и интерпретация полученных данных.

Публикации по теме диссертации. По материалам диссертации опубликовано 12 научных работ, из них 6 статей в изданиях, рекомендованных ВАК РФ, и международных баз данных, 6 – материалы и тезисы конференций.

Структура и объем диссертации. Работа изложена на 114 страницах, содержит 17 рисунков и 28 таблиц, состоит из введения, обзора литературы, 5

разделов с изложением экспериментального материала, содержащих описание объектов и методов исследования, результатов и их обсуждения, заключения, списка сокращений и двух приложений. Список цитированной литературы включает 175 источников, в том числе 97 иностранных работ.

Благодарности. Выражаю искреннюю благодарность моему научному руководителю Гультяевой Елене Ивановне за помощь на всех этапах выполнения и написания диссертации. Глубокая признательность всему коллективу лаборатории микологии и фитопатологии ВИЗР. Большое спасибо проф. Е. Косману (Institute for Cereal Crops Improvement, Tel Aviv University) за огромную помощь в статистической обработке данных. Особая благодарность И.А. Казарцеву за помощь в проведении SSR-анализа и магистранту ЛГУ им. Пушкина Д.Р. Яковлевой, принимавшей участие на разных этапах работы.

Автор выражает глубокую благодарность К.М. Абдуллаеву, В.С. Юсову, П.Н. Мальчикову, М.А. Розовой, Н.В. Шишкину, Е.Р. Шрейдер, Е.Е. Радченко, И. В. Грушевой, А. Кохметовой, Ж.Н. Худокормовой, И.Б. Абловой и всем другим коллегам из ВИРа, ДОС ВИР, КОС ВИР, НЦЗ им. П.П. Лукьяненко, ЧНИИСХ, ОмГАУ, Самарского НИИСХ, СФНЦА РАН, АНЦ «Донской», ФБНУ ФАНЦА, ИЦИГ за помощь в сборе инфекционного материала.

ГЛАВА 1. ИССЛЕДОВАНИЯ ПОПУЛЯЦИЙ ВОЗБУДИТЕЛЯ БУРОЙ РЖАВЧИНЫ ПШЕНИЦЫ НА ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЕ В РОССИИ И ЗА РУБЕЖОМ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Твердая пшеница (*Triticum durum* Desf.) – одна из древнейших продовольственных культур. Посевные площади, занимаемые твердой пшеницей в мировом масштабе, в последние десятилетия составляют 12–15 млн га, средняя урожайность 3,8 т/га. К основным регионам возделывания относятся Передняя Азия (до 4,5 млн га), Западная Европа (2,5), Северная Африка (3,2), Северная Америка (более 3,5), страны СНГ (1,2) и Южная Америка (0,1). Крупнейшими мировыми производителями твердой пшеницы являются страны Северной Америки (Канада – 5,0–7,8 млн т ежегодно, США – 1,5–2,8 млн т, Мексика – 2,0 млн т), Европейского Союза (8,5–9,8 млн т, в том числе Италия – около 4 млн т), северной Африки (Марокко – 2,0 млн т, Алжир – 2,0 млн т, Тунис – 1,0 млн т), а также Турция (4,0 млн т) (Гончаров, Курашов, 2018).

В России твердая пшеница возделывается в Поволжье, Зауралье, Западной Сибири и на Северном Кавказе (Романенко и др., 2013, 2018; Розова, Зиборов, 2015; Гончаров, Курашов, 2018; Мальчиков и др., 2018). Зерно твердой пшеницы используют для производства манной крупы, круп «кус-кус», «булгур» («бургуль») и высококачественных макаронных изделий (Гончаров, Курашов, 2018). В России твердая пшеница занимает 8-9% от общего количества посевных площадей, занятых под пшеницей. Яровая твердая пшеница имеет большее распространение, так как озимая характеризуется низкой морозостойкостью. Для выращивания яровых сортов предпочтителен жаркий и сухой климат. При этом твердая пшеница менее устойчива к почвенной засухе, чем мягкая, но устойчива к атмосферной засухе в фазе формирования зерна. Озимые сорта возделываются в южных районах России, где наблюдаются мягкие зимы (<http://agro-portal.su/tverdaya-pshenica.html>).

Одним из факторов, обуславливающих недобор урожая твердой пшеницы, является поражение ее болезнями. Бурая ржавчина (синоним листовая ржавчина), вызываемая биотрофным патогеном *Puccinia triticina* Erikss., – одно из распространенных заболеваний твердой пшеницы во всех регионах ее выращивания (Fernandez, Knoch, 2012). До недавнего времени считалось, что вид *T. durum* более устойчив к бурой ржавчине по сравнению с *T. aestivum* (Вавилов, 1964; Дорофеев и др., 1987). Для твердой пшеницы заболевание приобрело актуальность в начале 2000 г., когда на северо- и южно-американском континентах, в Западной Европе и Средиземноморье широко выращиваемые сорта утратили устойчивость, и стали отмечаться эпифитотии (Singh et al., 2004; Martinez et al. 2005; Ordoñez, Kolmer, 2007; Huerta-Espino et al., 2009; Goyeau et al., 2012).

В России бурая ржавчина распространена на твердой пшенице в большинстве зон выращивания (Евдокимов, 2006; Самофалова и др., 2012; Беляева и др., 2018). Вредоносность ее варьирует по годам и регионам. Иммуногенетическая защита является приоритетным методом в борьбе с бурой ржавчиной (Афанасенко, 2010). Для рационального распределения в агроценозах устойчивых сортов и повышения эффективности защитных мероприятий необходимо проведение перманентного анализа изменчивости структуры популяций патогена и мониторинга эффективности генов устойчивости (Левитин, Федорова, 1972; Левитин, Мироненко, 2016). Популяции возбудителя бурой ржавчины достаточно длительно исследовались на мягкой пшенице (с 1930 г.) (Mains, Jackson, 1926; Newton, Johnson, 1932). На твердой пшенице популяционные исследования стали активно проводить в начале 2000 годов в США (Ordoñez, Kolmer, 2007), Мексике (Singh et al., 2004; Huerta-Espino et al., 2009), Италии (Martinez et al. 2005) и Франции (Goyeau et al. 2012). В России анализ вирулентности *P. triticina* на твердой пшенице проводился только на Дагестанской опытной станции ВИР (ДОС ВИР, Дербентский р-н) в 1970-1980 гг. (Дмитриев и др., 1976; Берлянд-Кожевников и др., 1978; Михайлова, Метревели, 1986).

1.1 ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ БУРОЙ РЖАВЧИНЫ ПШЕНИЦЫ

Возбудитель бурой ржавчины гриб *Puccinia triticina* Erikss. относится к классу *Basidiomycetes*, порядку *Uredinales*, семейству *Pucciniaceae* (Лекомцева, 2007).

Таксономия патогена пшеницы достаточно сложна. В разные периоды гриб назывался: *Puccinia recondita* Roberge ex Desmazieres (in: Bull. Soc. Bot.Fr., 4: 798, 1857), *P. recondita* f. sp. *tritici* [Erikss.] C. O. Johnston (in: Robigo, 15: 1, 1963), syn. – *P. dispersa* f. sp. *tritici* Eriksson; *P. triticina* Eriksson; *P. recondita* f. sp. *triticina* [Erikss.] D.M. Henderson; *P. persistens* Polar. (monogr. Brit. Ured. A. Ustil., p. 180, 1889), *P. perplexans* var. *triticina* [Erikss.] Urban f. sp. *triticina* Urban.) (цит. по Андреев, Плотникова, 1989).

Практически неразличимые по морфологии урединиоспоры и близкие симптомы проявления бурой ржавчины на пшенице и ржи привели к тому, что возбудителей бурой ржавчины на этих растениях стали относить к одному виду *P. recondita* в виде отдельных специальных форм - f. sp. *tritici* и f. sp. *secalis* соответственно (Henderson, 1961). В то же время возбудитель бурой ржавчины пшеницы с типовым образцом на пшенице под названием *Puccinia triticina* Erikss. описан в 1894 г. Таким образом, отнесение в 1961 г. возбудителей бурой ржавчины пшеницы и ржи к одному виду *P. recondita* с типовым образцом на ржи (1857) не соответствует правилам ботанической номенклатуры. Определение грибов по симптомам на растениях в стадии урединиоспор привело к широкому применению неверной номенклатуры возбудителей (Лекомцева, 2007).

В 1984 г. появилась статья D. B. O. Savile (1984), в которой он предложил использовать название *P. recondita* для возбудителя бурой ржавчины ржи, а *P. triticina* – для возбудителя бурой ржавчины пшеницы. Основанием этому являлось то, что первое описание вида *P. recondita* было сделано на ржи.

В полном жизненном цикле возбудителя бурой ржавчины пшеницы имеется 5 стадий развития: 0 – пикниостадия; I – эциостадия; II – урединиостадия; III – телиостадия; IV – базидиостадия (Андреев, Плотникова, 1989).

0-I стадии проходят на видах рода *Thalictrum* spp. и в некоторых регионах России на сорняке - лещице (*Isopyrum fumaroides*) (Брызгалова, 1937) и ломоносе (*Clematis manjichurica*) (Васильева, 1951).

II-III стадии развиваются на видах родов *Triticum*, *Aegilops*, *Elymus*, *Agropyron* и др. в форме дикариотического мицелия, урединиоспор и телиоспор. В урединиостадии чередуется несколько генераций, число которых зависит от климатических условий и длительности вегетационного периода растений - хозяев.

IV стадия характеризуется образованием спороносной структуры, базидии, образующейся в результате мейоза при прорастании клеток телеоспоры.

Заражение промежуточных растений-хозяев базидиоспорами происходит весной. При инфицировании на верхней поверхности листа образуются колбообразные спермогонии. Базидиоспоры и возникающие из них спермогонии обозначаются «+» или «-». Каждый спермогоний содержит два типа гиф: один образует цепочки мелких клеток, называемых спермациями, а второй – так называемые воспринимающие гифы. Контакт спермация и воспринимающей гифы разных знаков приводит к плазмогамии и образованию растущей дикариотической гифы, формирующей на нижней стороне листа эций с эциоспорами, которые заражают впоследствии пшеницу и близкородственные злаки (Raven, et al., 1992).

В большинстве случаев жизненный цикл бурой ржавчины укорачивается за счет жизнеспособности урединиостадии (перезимовка на всходах озимых культур и диких злаках).

Схема жизненного цикла возбудителя представлена на рисунке 1.

Показано, что клональное размножение патогена является преобладающим повсеместно (Goyeau et al., 2007; Kolmer et al., 2011, Kolmer, 2013). В некоторых регионах гриб может зимовать в виде урединиоспор или дикариотического мицелия на озимой пшенице (Русаков, 1926; Степанов, 1940).

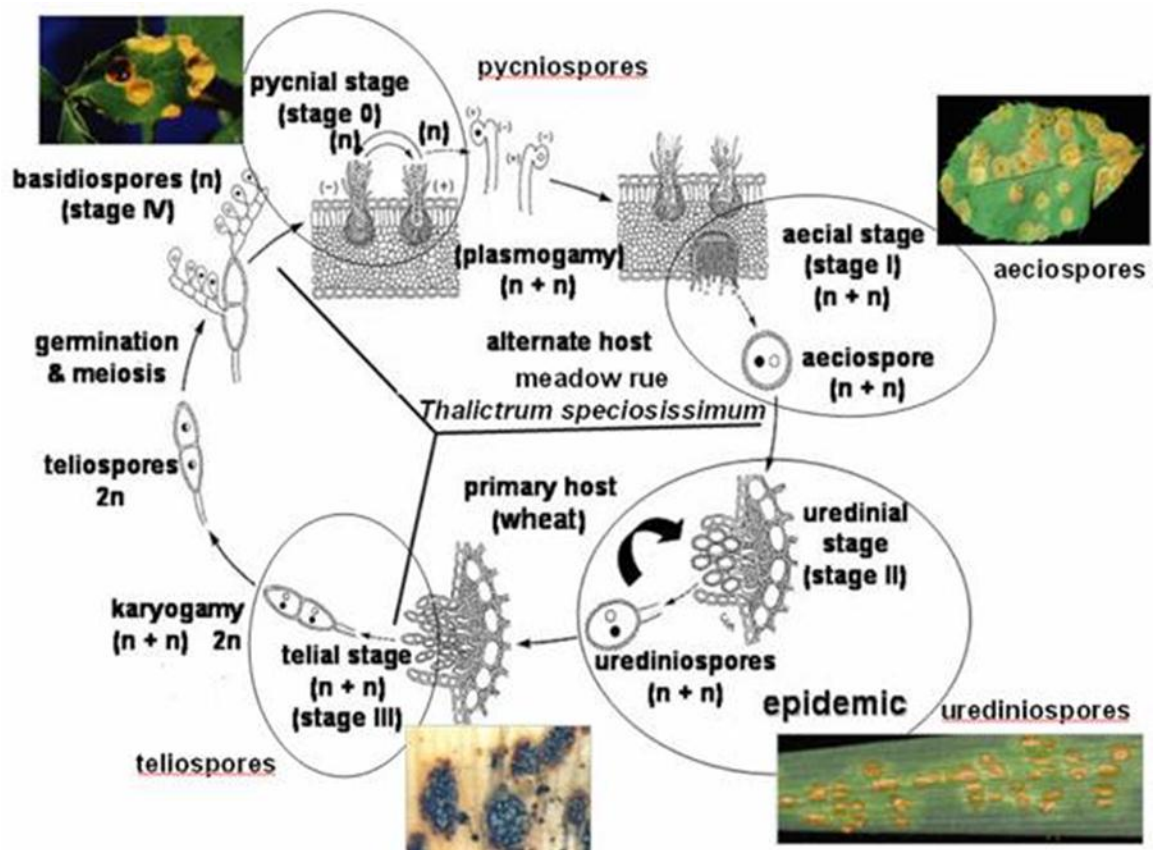


Рисунок 1 – Схема жизненного цикла *P. triticina*

Kolmer, J.A. The rust fungi. Encyclopedia of Life Sciences / J.A. Kolmer, M. E. Ordonez, J.V. Groth [In eds. John Wiley & Sons]. – Ltd.: Chichester, UK, 2009. – P. 1-8.

У. Anikster с соавторами (1997) установили, что вид *P. triticina*, выделенный с промежуточного растения-хозяина *Thalictrum* sp., встречается как на твердой, так и на мягкой пшенице. Вид *P. recondita*, найденный на твердой пшенице наряду с *P. triticina* в некоторых образцах популяций, происходит с промежуточного растения-хозяина *Anchusa italica* и обнаружен ограниченно только в Марокко (Ezzahiri, 1992), Португалии (D'Oliveira, Samborski, 1964) и Южной Италии (Casulli et al., 1987).

1.2 *TRITICUM DURUM* КАК РАСТЕНИЕ-ХОЗЯИН ДЛЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ БУРОЙ РЖАВЧИНЫ

Triticum durum Desf. – диплоидный вид пшеницы ($2n=28$, геномы AABB). У него установлено 159 таксономических единиц (2 подвида, 6 групп разновидностей) (Филатенко, Шайдуко, 2008). В соответствии с системой рода *Triticum*, разработанной в отделе пшениц ВИР (Дорофеев и др., 1979), твердая пшеница считается самостоятельным видом. Внутри *T. durum* рассматривают 2 подвида: subsp. *durum* и subsp. *horanicum* Vav.

Считается, что твердая пшеница произошла от общего с *Triticum dicoccum* Schrank предка - дикой полбы *T. dicoccoides* (Körn. ex Aschers. et Graebn.) Schweinf. (Флягсбергер, 1935).

Благодаря более высоким показателям качества зерна и продуктивности *T. durum* постепенно заменил своего предка и стал ко второму тысячелетию до нашей эры основной культурной формой тетраплоидной пшеницы (Maier, 1996; Nesbitt, Samuel, 1998; Zohary et al., 2012). По мнению Н.И. Вавилова (1940; 1966), вид *T. durum* произошел в Северной Африке и Средиземноморском побережье. Объяснением этому являлось то, что всё богатейшее разнообразие признаков твёрдой пшеницы сосредоточено в Абиссинии (нынешней Эфиопии), откуда потом этот вид распространился в страны Средиземноморья и другие регионы (цит. по Дружин и др., <http://www.reforef.ru>).

Россия и СССР являлись крупными производителями высококачественного зерна яровой твердой пшеницы. До второй мировой войны из 165 млн. га посевов пшеницы в мировом земледелии на долю твердой пшеницы приходилось около 10%. В СССР, в 1940-х гг. посевы твердой пшеницы превышали 4 млн. га, в том числе в Украине – 645 тыс. га. В послевоенные годы посевы твердой пшеницы начали расширяться и достигли максимума в 1966 г. – около 8 млн. га, или 11,4 % площадей посева пшеницы в стране. Внедрение продуктивных сортов мягкой пшеницы привело к резкому сокращению посевов яровой твердой как менее урожайной. Это вызвало значительное снижение производства зерна твердой

пшеницы, а перерабатывающая промышленность стала использовать зерно мягкой пшеницы, изделия из которой не отличались высоким качеством (цит. по Щипак и др., 2012).

Твердая пшеница лучше всего приспособлена к регионам с относительно сухим климатом, с жаркими днями и прохладными ночами в течение вегетационного периода, типичными для средиземноморского умеренного климата. Семена могут прорасти при 2 °C, но оптимальная температура составляет 15 °C (Bozzini, 1988). Она менее устойчива к почвенной засухе по сравнению с мягкой пшеницей, но более устойчива к атмосферной засухе в период формирования зерна. Отличается высокими требованиями к плодородию почвы. Вид представлен в основном яровыми формами, но встречаются озимые и двуручки (Чебаков, 2008; Дружин и др., <http://www.reforef.ru>). В нашей стране озимая твердая пшеница впервые была описана в середине 19 века А.М. Бажановым (1856) под названием Сара-Бугда. Ее высевали на Кавказе в районе Дербента (Бажанов, 1856).

Первые упоминания о возделывании яровой твердой пшеницы в России датируются 1843 годом. А. Гастгаузен (1870) сообщает о возделывании белотурки в Самарской и Саратовской губерниях. Восьмидесятые годы XIX столетия характеризовались преобладанием посевов твердой пшеницы в степных местностях Алтайского края (Голубев, 1890). В настоящее время основные площади яровой твердой пшеницы на территории нашей страны сосредоточены в Поволжье и Западной Сибири. В засушливой зоне Юго-Востока европейской части России (Поволжье) посевы твёрдой пшеницы, к сожалению, резко сократились (в отличие от мировых тенденций) и в последние годы не превышают 700-800 тыс. га. Следует отметить, что в 1960 г. только в Саратовской области площадь под твёрдой пшеницей достигала 848 тыс. га, что составляло около 40 % посевов этой культуры в СССР (Гущин, Инякина, 1963), а в 2009 г. она составила всего лишь 48 тыс. га (цит. по Васильчук и др., 2010).

Анализ погодных условий различных зон Западной Сибири позволяет сделать вывод о возможности возделывания имеющихся сортов твердой пшеницы

в степной зоне (Алтайский край), южной лесостепи (Новосибирская область), северной лесостепи (Кемеровская, Новосибирская, Тюменская, Алтайская, Омская области) и предгорьях подтаежной и таежной зон (Кемеровская, Алтайская, Томская области) (Савицкая, и др., 1987; Розова, Зиборов, 2015).

Значительная часть площадей под озимой твердой пшеницей сосредоточена в Ростовской области. В настоящее время твердая пшеница в этом регионе представлена сортами как ярового, так и озимого образа жизни, но доминируют озимые (Самофалова и др., 2012). Допущенные к использованию сорта твердой озимой пшеницы обладают достаточным уровнем адаптивности в зонах выращивания, и в условиях производства способны формировать урожайность зерна в пределах 35-60 ц/га (Чепец, 2015). Агроклиматические условия Ставропольского края также позволяют успешно возделывать озимую твердую пшеницу (Браилко, 2004).

Производство твердой пшеницы зачастую лимитировано развитием заболеваний, среди которых широко распространена бурая ржавчина (Marasas et al., 2003; Huerta-Espino et al., 2011; Fernandez, Knox, 2012). Исторически считается, что твердая пшеница более устойчива к бурой ржавчине, чем мягкая (Singh, et al., 2004; Михайлова, 2005; Евдокимов, 2006; Herrera-Foessel et al., 2006). В связи с этим ее часто использовали в качестве донора устойчивости в селекции мягкой пшеницы (Дорофеев и др., 1987; Плотникова и др., 2012).

Ж.Н. Худокормова (2008) сообщает о различиях в типах устойчивости у мягкой и твердой пшеницы. При изучении реакции растений на внедрение патогена в различные фазы онтогенеза установлено, что резистентность к бурой ржавчине *T. durum* обусловлена в большей степени горизонтальным (расонеспецифическим) типом устойчивости. Данное предположение выдвинуто на основании проведенного иммунологического анализа селекционных линий пшеницы твердой, в результате которого не были выявлены образцы, устойчивые в фазу двух листьев.

Однако в мировой и отечественной литературе имеется множество сведений о широкой встречаемости у образцов твердой пшеницы расоспецифического

(вертикального) типа устойчивости (Statler, 1973, 1982; Rashid et al., 1976; Zhang, Knott, 1980, 1983; Щербик, 2011). При изучении обширной коллекции *T. durum* (309 образцов) разного географического происхождения А.А. Щербик (2011) показала, что свыше половины из них (68%) характеризовались высоким уровнем устойчивости в фазе проростков и взрослых растений, и только 29% имели возрастную и частичную устойчивость.

Значительная часть изученных в течение длительного периода коллекционных образцов и селекционных линий твердой пшеницы в Самарском НИИСХ имела умеренную устойчивость к бурой ржавчине, что, вероятно, связано с наличием в их генотипах слабоэффективных аллелей *Lr*-генов, дающих при скрещиваниях трансгрессии по устойчивости. При этом на восприимчивых сортах мягкой пшеницы в этот период отмечались сильные эпифитотии (Мальчиков, 2009). Аналогичное наблюдение отмечено для образцов твердой пшеницы по отношению к дагестанской популяции *P. triticina* (Альдеров, Магомедов, 2000). В то же время часть сортов твёрдой пшеницы в условиях Саратова значительно поражалась бурой ржавчиной и относилась к группе сильно восприимчивых (Крупнов и др., 2000).

Показано различное распределение образцов твердой пшеницы из разных экологических групп и подвидов по степени восприимчивости к бурой ржавчине. Высокой долей восприимчивых образцов отличается азербайджано-дагестанская группа. Данный факт подтверждается многолетними наблюдениями в Дагестане, где обычно наблюдается достаточно высокий естественный инфекционный фон (Хлгатын, Мурадян, 1980; Магомедов, 1997). Среди изученных образцов твердой пшеницы из Эфиопии, также отсутствовали устойчивые формы.

От твердой пшеницы в мягкую пшеницу перенесены гены устойчивости к бурой (*Lr14a*, *Lr23*), стеблевой (*Sr12*) ржавчинам и мучнистой росе (*Mld* и *Pm3d*) (McIntosh et al., 1995). Предполагается, что ген *Lr23*, определенный в сорте Gaza, имеет широкое распространение в сортах твердой пшеницы (McIntosh, Dyck 1975; Nelson et al., 1997). И.Г. Одинцова и соавторы (1982, 1984, 1989) определили, что

многие устойчивые образцы яровой твердой пшеницы из коллекции ВИР, имеющие широкое географическое происхождение, защищены геном *Lr23*.

Генетика устойчивости к бурой ржавчине у твердой пшеницы изучена сравнительно хуже по сравнению с мягкой (Kolmer, 1996). Наряду с геном *Lr23* у сортов *T. durum* идентифицированы гены *Lr1*, *Lr2*, *Lr3*, *Lr10*, *Lr13*, *Lr14a*, *Lr16*, *Lr17a*, *Lr27+Lr31*, *Lr47*, *Lr52*, *Lr61*, *Lr64*, *Lr72* и *LrCamayo* (Zhang, Knott 1990; Singh et al., 1993, Dyck, 1994; Dubcovsky et al., 1998; Aguilar-Rincon et al., 2001; Herrera-Foessel et al., 2005, 2007, 2008a, 2008b, 2014; McIntosh et al., 2009; Singh et al., 2010). Кроме этих генов у сортов селекции CIMMYT также выявлен ген частичной устойчивости *Lr46* (slow rusting gene) (Herrera-Foessel et al., 2011).

Наличие этих генов в выращиваемых сортах твердой пшеницы предопределило потерю эффективности некоторых из них. Например, в 2008 г. в Мексике были выявлены изоляты, вирулентные к сочетанию генов *Lr27+Lr31* (Huerta-Espino et al., 2009). Среди изолятов расы BBG/BN, вызвавшей эпифитотию на твердой пшенице в Мексике в начале 2000 годов, был выделен патотип, вирулентный к *Lr61* (Herrera-Foessel et al., 2014). Гены *Lr14a* и *LrCamayo* по-прежнему сохраняют свою эффективность в Мексике, но утратили ее во Франции (Goyeau et al., 2006), Испании, Тунисе и Марокко (Kolmer et al., 2018).

Высокие темпы изменчивости патогена предопределяют необходимость поиска и использования новых доноров устойчивости в селекции твердой пшеницы во всем мире.

1.3 ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ *PUSSINIA TRITICINA* НА ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЕ

1.3.1 ИЗУЧЕНИЕ ПОПУЛЯЦИЙ *PUSSINIA TRITICINA* ПО ПРИЗНАКУ ВИРУЛЕНТНОСТИ

До 2000 годов популяции патогена на твердой пшенице не были столь обширны, как на мягкой. В первую очередь это обусловлено тем, что зоны

выращивания *T. durum* значительно меньше, чем у *T. aestivum*. Кроме того, данный вид был более устойчив к бурой ржавчине.

Необходимость проведения популяционных исследований на твердой пшенице была обусловлена постепенной потерей устойчивости возделываемых сортов. Так, при оценке устойчивости тринадцати выращиваемых в 1990-х годах в Марокко сортов твердой пшеницы 12 показали восприимчивость к 30% используемым для заражения изолятов бурой ржавчины (Ezzahiri et al., 1996).

Проведенный в 1990-1998 гг. анализ вирулентности марокканской популяции *P. triticina* на твердой пшенице выявил существенное варьирование в частотах вирулентности к изогенным линиям Thatcher (табл. 1).

Таблица 1 – Частоты вирулентности *Puccinia triticina* в Марокко в 1990-1998 гг. *

Lr-гены	1990	1992	1994	1996	1997	1998
1	69	81	20	0	0	03
2a	39	36	17	0	3	1.5
2c	78	63	22	0	8.5	3
3	86	79	22	0	3	3
3ka	02	09	15	0	0	0
9	07	-	10	0	0	0
10	84	72	100	100	100	100
11	53	38	25	0	3	6.5
16	90	87	76	45	17	16
17	85	77	89	43	31	10
19	-	0	0	0	0	0
24	0	0	0	0	0	0
26	0	0	0	0	0	0
29	-	-	-	0	0	0
30	-	-	-	100	64.5	92
32	-	-	-	45	25	18
33	-	-	-	72.5	67	93.
34	-	-	-	87	56	90
Число ИЗОЛЯТОВ	148	135	156	62	36	62

* Источник данных: Ezzahiri, B. Leaf rust of durum wheats. / B. Ezzahiri [In eds: Royo C., Nachit M., Di Fonzo N., Araus J.L.] // Durum wheat improvement in the Mediterranean region: New challenges). Zaragoza: CIHEAM Options Méditerranéennes: Série A. Séminaires Méditerranéens, 2000. – V. 40. – P. 357-361.

Наибольшее распространение в эти годы имели патотипы, вирулентные к *Lr10*, *Lr30*, *Lr33* и *Lr34* и авирулентные к *Lr1*, *Lr2a*, *Lr2c*, *Lr3*, *Lr3ka*, *Lr9*, *Lr11*, *Lr16*, *Lr17*, *Lr19*, *Lr24*, *Lr26*, *Lr29* и *Lr32*. Изолят со сходным фенотипом вирулентности в этот же период был обнаружен R. Park с соавторами (1996) при анализе популяций *P. triticina* с мягкой пшеницы, собранной в южной Франции. С использованием RAPD маркеров показаны существенные отличия данного изолята от других изолятов с мягкой пшеницы. На основании этого, было сделано заключение, что данный фенотип был занесен во Францию из Марокко, где он имел широкую представленность на твердой пшенице.

Сильные эпифитотии бурой ржавчины на твердой пшенице отмечены в Мексике в 2001-2003 гг. Финансовые потери от эпифитотий 2000-2001 гг., 2001-2002 гг., и 2002-2003 гг. составили 32 млн долларов. Обусловлено это появлением новой расы BBG/BN, поразившей сорт Altar C84, который был до этого высокоустойчив к бурой ржавчине в течение 16-летнего периода возделывания. Оценка новых, рекомендованных к выращиванию в этот период, сортов твердой пшеницы также показала их восприимчивость к данной расе. Это указывало на то, что при их введении в производство ситуация с бурой ржавчиной начнет усугубляться.

Все это предопределило актуальность проведения ежегодных популяционных исследований *P. triticina* на твердой пшенице в Мексике. В результате анализа вирулентности определено, что новая раса, вызвавшая эпифитотии в начале 2000 годов, имела экзогенное происхождение и предположительно была занесена из Западной Европы (Singh et al., 2004).

Усиление вредоносности *P. triticina* на твердой пшенице в странах Западной Европы стали отмечать в конце 1990-х начале 2000-х годов (Martinez et al., 2005; Goyeau et al., 2006). Эта ситуация привела к необходимости увеличения фунгицидных обработок и возрастанию финансовых затрат на выращивание данной культуры.

При анализе популяций *P. triticina* во Франции в 1999-2001 гг. было идентифицировано 16 фенотипов, среди которых семь были редкими и отмечены

только в один из сезонов. Для идентификации фенотипов использовали 17 линий Thatcher (Tc) с генами *Lr1*, *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr2c*, *Lr3a*, *Lr3bg*, *Lr3ka*, *Lr10*, *Lr13*, *Lr14a*, *Lr15*, *Lr16*, *Lr17*, *Lr20*, *Lr23*, *Lr26*, *Lr37*, австралийский сорт Harrier с геном *Lr17b* и восприимчивый контроль Morocco. Фенотипы с твердой пшеницы характеризовались разным числом аллелей вирулентности (от 3 до 14). Наиболее представленным был фенотип, вирулентный к *Lr2c*, *Lr10* и *Lr20*. Все фенотипы, обнаруженные на твердой пшенице, отличались от выделенных в этот же период исследований с мягкой пшеницы (Goyeau et al., 2006).

Данные исследования были продолжены в 2002-2009 гг. (Goyeau et al., 2012). При анализе вирулентности использовано большее, чем в предыдущие годы, число изогенных линий (29) и дополнительно в анализ включили 17 линий и сортов из международного набора (Huerta-Espino, Roelfs, 1989, 1992; Singh et al., 2004). Наряду с ними были изучены 26 сортов твердой пшеницы, рекомендуемых для выращивания во Франции.

Инфекционный материал *P. triticina* (310 изолятов) был получен с 30 сортов твердой пшеницы, выращиваемых в разных регионах Франции. Большая часть изолятов была выделена с трех сортов: Neodur (высоковосприимчивый к бурой ржавчине и возделываемый во Франции с 1997 г.), Nefer (зарегистрирован в 1997 г. как устойчивый к бурой ржавчине, но утративший ее в 2001) и Biensur (зарегистрирован в 2001 г. как устойчивый, широко выращиваемый во Франции в 2005-2008 гг.). Изоляты с этих трех сортов представляли 49% от общего числа изученных. Все изоляты характеризовались вирулентностью к 15 из 17 сортов, включенных в международный набор, причем определено было только 5 фенотипов. Изоляты различались прежде всего на линиях *TcLr14a*, *TcLr23* и сортах Altar C84 и Gaza.

Показано, что французская популяция *P. triticina* на твердой пшенице в 2002-2009 гг. отличалась от популяции 1999–2000 гг. В 1999-2000 гг. преобладали патотипы, авирулентные ко всем линиям – дифференциаторам, за исключением *TcLr2c*, *TcLr10*, *TcLr14b*, *TcLr20*, *TcLr21*, *TcLr33* и *TcLr44*. В этот же период были выявлены единичные изоляты, вирулентные к сорту Altar и линии с геном *Lr23*,

т.е. изоляты, идентичные тем, которые вызвали сильнейшую эпифитотию в Мексике в 2001 году (раса BBG/BN) (Singh et al., 2004). Однако французский патотип, вирулентный к сорту Altar и линии с *Lr23*, и фенотип BBG/BN, обнаруженный в Мексике, различались между собой по типу реакции к линиям с генами *Lr11* и *Lr21*, а также к сорту Gaza. Начиная с 2000 годов, во Франции отмечается существенное возрастание частоты фенотипов, вирулентных к сорту Altar 23 (Goyeau et al., 2012). Наряду с вирулентностью к сорту Altar 23, эти изоляты были вирулентны к линиям с генами *Lr10*, *Lr14b*, *Lr20*, *Lr22a*, *Lr23*, *Lr33*, *Lr34*, *Lr41* и *Lr44*.

В 1998-2000 гг. F. Martinez (2005) провел анализ вирулентности образцов *P. triticina*, собранных на твердой пшенице в Андалусии (Испания). Всего было изучено 15 изолятов. Все изоляты оказались вирулентны к линиям с генами *Lr2c*, *Lr14a*, *Lr18*, *Lr20* и *Lr23* и авирулентными к *Lr1*, *Lr2a*, *Lr3a*, *Lr3ka*, *Lr3bg*, *Lr15*, *Lr16*, *Lr17*, *Lr24*, *Lr26* и *Lr30*. На линиях с генами *Lr2b*, *LrB* и *Lr28* наблюдали варьирование частот вирулентности от 7 до 47%. Изученная коллекция изолятов была представлена шестью фенотипами (расами). Фенотип DBBNQ (вирулентность к образцам с генами *Lr2c*, *Lr14a*, *Lr18*, *Lr20*, *Lr23*) был общим для трех лет исследований. Фенотип DBBNQ (вирулентность на Tc*Lr2c*, Tc*Lr14a*, Tc*Lr18*, Tc*Lr20*, Tc*Lr23*, Tc*LrB*) идентифицирован только в 2000 году. По мнению авторов, этот фенотип тождественен с BBG/BN, выявленным в Мексике в 2001 г. (Martinez et al., 2005).

В 2004-2005 гг. исследования патогена на твердой пшенице в Андалусии были продолжены A.I. del Olmo с соавторами (2008). Инфекционный материал был собран в 26 точках Южной Испании. Изучили 32 монопустульных изолята, среди которых выявили 10 фенотипов. Существенные различия по вирулентности патогена, по сравнению с 1998-2001 гг. не были выявлены. Все изоляты характеризовались вирулентностью к линиям с генами *Lr10*, *Lr12*, *Lr14a*, *Lr14b*, *Lr18*, *Lr23* и авирулентностью к Tc*Lr1*, Tc*Lr2a*, Tc*Lr3*, Tc*Lr3bg*, Tc*Lr3ka*, Tc*Lr9*, Tc*Lr15*, Tc*Lr17*, Tc*Lr24* и Tc*Lr26*. Наиболее представленным был фенотип

BBBPPM (вирулентность/авирулентность: TcLr: 10, 12, 14a, 14b, 18, 20, 23, B) / 1, 2a, 3, 3bg, 3ka, 9, 15, 17, 24, 26) (Del Olmo, 2008).

В 1995-2006 гг. в Италии изучили ограниченную коллекцию изолятов *P. triticina* с твердой пшеницы (7 шт. – 1995 г., 1 – 1997 г., 1 – 2003 г., 2 – 2004 г., 6 – 2006 г.) (Mantovani et al., 2010). Среди них выявлены фенотипы BBBGG (вирулентность (v) к Lr10, Lr14b, Lr33), BBBQG (v: LrB, Lr10, Lr14b, Lr33), BBBGJ (v: Lr10, Lr14b, Lr20, Lr23, Lr33), DCBQG (v: Lr2c, Lr26, LrB, Lr10, Lr14b, Lr33). Общим для всех изолятов была вирулентность к Lr10 и Lr14b и авирулентность к Lr1, Lr2a, Lr3a, Lr3bg, Lr3ka, Lr9, Lr11, Lr14a, Lr16, Lr17, Lr18, Lr24, Lr26, Lr28, Lr30.

В середине 2000 годов М. Е. Ordoñez и J. А. Kolmer (2007) изучили вирулентность изолятов *P. triticina*, собранных с твердой пшеницы в разных регионах мира в 2000-2003 гг. (Аргентина, Чили, США (2003 г.), Эфиопия (2002 г.), Франция (2002, 2003 гг.), Испания (2000-2003 гг.). Всего было изучено 78 изолятов, среди которых (прииспользовании 35 изогенных линий Thatcher) выявлено 20 фенотипов. Все изоляты были авирулентны к линиям с генами Lr1, Lr2a, Lr2c, Lr3a, Lr3ka, Lr3bg, Lr9, Lr11, Lr16, Lr17, Lr18, Lr19, Lr21, Lr24, Lr25, Lr26, Lr29, Lr30, Lr32, Lr38, Lr45 и вирулентны к Lr33 и Lr34. Различия между изолятами наблюдали по вирулентности к линиям с генами Lr10, Lr14a, Lr14b, Lr15, Lr20, Lr22a, Lr23, Lr41 и Lr44. При этом семь изолятов из Эфиопии были авирулентны к сорту Thatcher и всем использовавшимся изогенным линиям.

На основании проведенных исследований авторы предположили, что изоляты из Аргентины, Испании, Чили, Франции, Мексики и США имеют общее происхождение и отличаются от эфиопских. Эфиопия относится к центру совместной эволюции пшеницы и *P. triticina*. Здесь наблюдается высокое разнообразие тетраплоидной пшеницы, которая занимает около 60% от всех других культивируемых в Эфиопии пшениц. В основном она выращивается в мелких фермерских хозяйствах, которые предпочитают высевать местные сорта. По мнению авторов, популяция *P. triticina* в Эфиопии претерпела меньший

селекционный пресс, чем популяции патогена в Европе, Северной и Южной Америке (Ordoñez, Kolmer, 2007).

В 2006 г. появление новой расы *P. triticina*, способной поражать твердую пшеницу и полбу, отмечено в Индии (Bhardwaj et al., 2013). Новая раса 5R9-7(DBBGB) поразила большинство возделываемых в Индии сортов твердой пшеницы. При этом она была авирулентна к сортам мягкой пшеницы, в том числе и к восприимчивому стандарту сорту Agra Local. Раса 5R9-7(DBBGB) характеризовалась вирулентностью к линиям с генами *Lr2c*, *Lr14a*, *Lr18* и *Lr20* и существенно отличалась по вирулентности от расы DBG/CD, обнаруженной в Мексике в 2000 г.

К 2010 годам вирулентность *P. triticina* к твердой пшенице была широко представлена в Мексике, странах Средиземноморья и Ближнего Востока. В США вирулентные изоляты до 2013 г. отмечали только в Имперской долине (Imperial Valley) штата Калифорния, граничащей с Аризонай (Kolmer, 2015). В 2013 г. впервые на территории Великих равнин (США) на сорте краснозерной мягкой пшеницы Overley обнаружена раса BBVQD, высоко вирулентная к твердой пшенице. Для этой расы характерен умеренно устойчивый тип реакции (2+) на линии с геном *Lr2c* и восприимчивый тип (3+) на линиях с *LrB*, *Lr10*, *Lr14b*, *Lr20*, *Lr23*, *Lr33*, *Lr39/41*, *Lr44* и *Lr64*. Раса была вирулентна к большинству сортов твердой пшеницы, выращиваемых в данном регионе.

Таким образом, популяции возбудителя бурой ржавчины, обитающие на твердой пшенице, охарактеризованы по признаку вирулентности во многих странах. В России исследования вирулентности в основном проводились на ДОС ВИР в 1970-1980 гг. (Дмитриев и др., 1976; Берлянд-Кожевников и др., 1978; Михайлова, 2006).

В 1972-1973 гг. А.П. Дмитриев с соавторами (1976) изучили вирулентность изолятов бурой ржавчины, полученных с 10 образцов твердой пшеницы. В качестве тестеров вирулентности было использовано 11 TcLr- линий с генами *Lr1*, *Lr2*, *Lr2a*, *Lr3d*, *Lr3a*, *Lr10*, *Lr12*, *Lr14*, *Lr16*, *Lr17* и *Lr18*. Всего в 1972 г. проанализировано 237 изолятов, в 1973 г. – 1235. Большинство изученных

изолятов характеризовались авирулентностью к линиям с генами *Lr1*, *Lr2* и *Lr17*. На остальных линиях наблюдали вариабельность по годам исследований. Частота изолятов, авирулентных к *TcLr14*, *TcLr16*, *TcLr17* и *TcLr18*, была выше в 1972 г., а к *TcLr2a*, *TcLr3a* и *TcLr10* – в 1973 г. В 1973 году число изолятов, вирулентных ко всем линиям-дифференциаторам, для большинства изученных сортов варьировало от 2% до 20%, и только на двух образцах твердой пшеницы из Алжира (и-299286, и-299289) оно было выше 50% (Берлянд-Кожевников и др., 1978).

Л.А. Михайлова и Т. Метревели (1986) провели сравнение образцов популяций, собранных с сортов твердой пшеницы на ДОС ВИР (1980-1981гг.) и Грузинском НИИСХ (Мцхета, 1976). В анализе использовали 9 линий Thatcher с генами *Lr1*, *Lr2a*, *Lr3d*, *Lr3a*, *Lr10*, *Lr14*, *Lr16*, *Lr17*, *Lr18* и сорт Кавказ с геном *Lr26*. В опытах наблюдали высокие частоты вирулентности патогена (близкие к 100%) на линиях с генами *Lr3a*, *Lr3d*, *Lr10*, *Lr14*, *Lr16* и *Lr18*. При этом, независимо от степени поражения сортов твердой пшеницы, используемых в качестве источника инфекции, все выделенные с них изоляты гриба были авирулентными на линиях с генами *Lr1*, *Lr2a* и *Lr17* (Михайлова, Метревели 1986).

В 2014 г. Е.И. Гульяевой и соавторами (2016) была изучена коллекция изолятов с твердой пшеницы из Северного Казахстана. Инфекционный материал был собран в Шортандинской области с двух сортов яровой твердой пшеницы Дамсинская 90 и Харьковская 4. Всего было изучено 20 монопустульных изолятов (по 10 с каждого сорта). Все изоляты характеризовались авирулентностью к линиям с генами *Lr9*, *Lr19*, *Lr24* и вирулентностью к *Lr3a*, *Lr3bg*, *Lr3ka*, *Lr11*, *Lr14a*, *Lr14b*, *Lr17*, *Lr26*, *Lr30*. Между популяциями на твердой и мягкой пшенице выявлены различия по вирулентности к *TcLr1*, *TcLr2a*, *TcLr2b*, *TcLr2c*, *TcLr15*, *TcLr16*, *TcLr18* и *TcLr20*. Все изоляты с твердой пшеницы показали авирулентность на этих линиях, а с мягкой – вирулентность (*TcLr20* – 33%, на остальных – 100%). В целом изоляты с твердой пшеницы были менее вирулентны, по сравнению с мягкой (среднее число аллелей вирулентности – 9 и 16.3

соответственно). Изоляты, выделенные с двух сортов твердой пшеницы, были представлены одним фенотипом, авирулентным к линиям *TcLr1*, *TcLr2a*, *TcLr2b*, *TcLr2c*, *TcLr9*, *TcLr15*, *TcLr19*, *TcLr20* и *TcLr24*.

Во всех вышепредставленных зарубежных и российских исследованиях (Берлянд-Кожевников и др., 1978; Михайлова, Метревели, 1986; Singh et al., 2004; Martinez et al., 2005; Goyeau et al., 2006; Ordoñez, Kolmer, 2007) также выявлены существенные различия между изолятами *P. triticina* на твердой и мягкой пшенице по признаку вирулентности. Изоляты с твердой пшеницы имели значимо меньшее число аллелей вирулентности и очень часто не заражали сорта мягкой пшеницы.

1.3.2 МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ В ИЗУЧЕНИИ ПОПУЛЯЦИЙ *PUCCINIA TRITICINA* НА ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЕ

С середины 1990 г. были предприняты попытки усовершенствовать подходы к изучению структуры популяций с использованием молекулярных маркеров. Ощутимый прорыв в молекулярных исследованиях *P. triticina* произошел в 2003-2007 гг., чему способствовало секвенирование ДНК нескольких изолятов гриба (Duan et al., 2003), выявление микросателлитных повторов в геноме патогена и конструирование на основе этого SSR-праймеров, эффективных в определении внутривидового полиморфизма популяций патогена (Szabo, Kolmer, 2007). SSR (микросателлитные) маркеры являются кодоминантными и могут выявлять различия между гомозиготными и гетерозиготными генотипами. С использованием подобранных SSR-маркеров был изучен молекулярный полиморфизм популяций *P. triticina* на мягкой пшенице в Северной и Южной Америке (Ordonez, Kolmer, 2009; Ordonez et al., 2010), в Западной Европе (Goyeau et al., 2007; Mantovani et al., 2010; Kolmer et al., 2013), в Средней и Центральной Азии и Закавказье (Kolmer, Ordonez, 2007; Kolmer et al., 2011), а также в России (цит. по Гультяева, Казарцев, 2018).

Первые исследования популяций *P. triticina* на твердой пшенице проведены М. Е. Ordoñez и J. A. Kolmer (2007b) в середине 2000-х годов (Ordoñez, Kolmer, 2007b). Эти эксперименты явились продолжением изучения международной коллекции изолятов охарактеризованной по вирулентности М. Е. Ordoñez и J. A. Kolmer (2007a), описанного в главе 1.3.1 (Ordoñez, Kolmer, 2007a). В молекулярно-генетических исследованиях изучено 67 изолятов из 7 стран (Аргентина – 5, Чили – 3, Эфиопия – 11, Франция – 14, Мексика – 25, Испания – 8, США – 6). Для анализа полиморфизма микросателлитных локусов отобрали 11 маркеров (PtSSR3, PtSSR61, PtSSR62, PtSSR68, PtSSR92, PtSSR152, PtSSR154, PtSSR158, PtSSR164, PtSSR173, PtSSR187). Изоляты из Аргентины были представлены двумя SSR-генотипами, из Чили – одним, из США – тремя, из Мексики, Франции и Испании – пятью, из Эфиопии – четырьмя. Все изоляты из Аргентины, Чили, Мексики, Франции и США показали высокое сходство и объединились в общий кластер. По мнению авторов, высокое сходство между изолятами первой группы из Аргентины, Чили, Мексики, Франции и США указывает на их общее происхождение и обусловлено межконтинентальной миграцией спор. Изоляты из Эфиопии отличались от этой группы и выделились в отдельную группу, что указывает на их независимую дивергенцию и их отличающееся происхождение.

Дополнительно в эти исследования были включены изоляты с мягкой пшеницы из этих же стран. Коллекция изолятов с мягкой пшеницы характеризовалась более высоким полиморфизмом по SSR-генотипам. Изоляты с мягкой пшеницы существенно отличались от двух групп изолятов с твердой пшеницы и составляли отдельный кластер. При этом в одну группу с ними вошли три изолята с твердой пшеницы (Чили, Испании, Эфиопии). Изоляты с твердой пшеницы (из Эфиопии и Чили) имели фенотип вирулентности BBBD, который на мягкой пшенице встречается очень редко. Испанский изолят относился к расе MGDS и был близок по вирулентности к изолятам с мягкой пшеницы. По мнению авторов, его появление является результатом контаминации при размножении в теплице. Предположение было сделано на

основании того, что F. Martinez с соавторами (2005) при изучении популяций *P. triticina* с мягкой и твердой пшеницы в Испании в 1998-2000 гг. подобных изолятов не выявляли.

На основании проведенных исследований сделано предположение, что расы *P. triticina* на твердой пшенице в Северной и Южной Америке, Европе и Африке имеют сходное происхождение. Аргументом для этого являлось то, что между всеми изученными изолятами *P. triticina* широкого географического происхождения различия невысоки, за исключением изолятов из Эфиопии.

В связи с этим возникла необходимость проанализировать дивергенцию и адаптацию гриба *P. triticina* к видам-хозяевам разной ploидности (Liu et al., 2014). Основная гипотеза состояла в том, что изоляты *P. triticina* на *Ae. speltoides* Tausch. представляют более раннюю эволюционную форму, а изоляты, вирулентные к твердой пшенице, имеют происхождение от изолятов с мягкой пшеницы. Для проверки этой гипотезы был разработан новый методический подход с использованием секвенирования интрон-содержащих участков гена субъединицы РНК-полимеразы (RPB2), информативных для рода *Puccinia* SSR-локусов, а также анонимных гипервариабильных участков генома (Liu et al., 2014). Все последовательности и праймеры были получены и проверены относительно имеющихся для *P. triticina* геномных библиотек. В SNP анализе (однонуклеотидный полиморфизм) использовали 48 изолятов с мягкой пшеницы широкого географического происхождения (Центральная Азия, Европа, Ближний Восток, Северная и Южная Америка, Новая Зеландия), 20 изолятов с твердой пшеницы (Ближний Восток, Эфиопия, Европа, Северная и Южная Америка) и 2 изолята с *Ae. speltoides* (Израиль). В качестве аутгруппы для филогенетического и коалесцентного анализа в исследования включили 2 изолята *P. persistens*, собранных в Чехии и Швеции на пырее (*Elymus repens* L.). В результате анализа 15 полиморфных локусов показано, что сопряженная эволюция *P. triticina* шла по вектору *Ae. speltoides* (донор генома В и цитоплазмы аллополиплоидных рядов пшеницы) – *T. durum* (эфиопские формы) – *T. aestivum* (Liu et al., 2014). Для других изолятов гриба с твердой пшеницы,

имеющих широкое географическое происхождение, показана относительно недавняя дивергенция из популяций патогена, обитающих на мягкой пшенице. На филогенетическом древе изоляты с *T. durum* отдельной группой вошли в общий кластер с изолятами, полученными с мягкой пшеницы. Сделан вывод, что по относительной временной шкале дивергенция *P. triticina* по специфичности к растению-хозяину произошла не очень давно. Значительный генный поток был определен между всеми популяциями патогена на мягкой и твердой пшенице, в том числе и эфиопскими (цит. по Гульяева, Казарцев, 20186).

Н. Goueau с соавторами (2012) изучили SSR-полиморфизм 76 изолятов, полученных с твердой пшеницы во Франции в 1997- 2009 гг. В исследованиях использовали 20 микросателлитных маркеров: RB8, RB11, RB12, RB17, RB25, RB26 RB29 (Enjalbert et al., 2002), PtSSR13, PtSSR50, PtSSR55, PtSSR61, PtSSR68, PtSSR91, PtSSR92, PtSSR152, PtSSR154, PtSSR158, PtSSR164, PtSSR173, PtSSR186 (Szabo, Kolmer, 2007). Среди 76 изолятов выявили три варианта генотипов. Два из них различались между собой по одному аллелю, а третий по – трем аллелям. Все эти генотипы существенно отличались от генотипов, идентифицированных у изолятов с мягкой пшеницы, возделываемой во Франции. Это еще раз подтвердило дивергенцию между популяциями на твердой и мягкой пшеницах.

В этот же период (1995-2006 гг.) был изучен полиморфизм микросателлитных локусов у субпопуляций *P. triticina* на твердой пшенице в Италии (Mantovani et al., 2010). Кроме изолятов из Италии, анализировали изоляты *P. triticina* из Франции, Испании, Эфиопии и Мексики, использовавшиеся в исследованиях М. Е. Ordoñez и J.A. Kolmer (2007), а также и изоляты с мягкой пшеницы. Оценили полиморфизм 15 микросателлитных локусов: RB8, RB11 (Duan et al., 2003); и Pt61, Pt68-1, Pt91, Pt92, Pt138, Pt152, Pt154, Pt158, Pt161, Pt164, Pt173, Pt184, и Pt186 (Szabo, Kolmer, 2007).

Изученные изоляты на дендрограмме объединились в три группы. В первую вошло большинство итальянских изолятов с твердой пшеницы,

относящихся к группам рас В- и D-, а также все референсные изоляты с твердой пшеницы из Испании, Франции, Эфиопии и Мексики. Другую группу составили семь итальянских изолятов с твердой пшеницы, вирулентность (v) которых была сходна с изолятами с мягкой пшеницы (v: *Lr2c*, *Lr3a*, *Lr3bg*). Третью группу составили все изоляты с мягкой пшеницы. Согласно статистическому индексу Fst, различия между всеми выделенными группами оценивались как существенные.

Таким образом, во всех вышеперечисленных молекулярно-генетических исследованиях, как и при анализе вирулентности, выявлены существенные различия между изолятами с твердой и мягкой пшеницы.

Аналогичные результаты получены и нами (Гультяева, Ахметова, Шайдаюк, и др., 2016) при изучении образцов популяций *P. triticina*, собранных в Северном Казахстане в 2015 г. с твердой и мягкой пшеницы. Оценили полиморфизм 18 микросателлитных локусов у 20 изолятов с твердой и 12 – с мягкой. Среди изолятов с мягкой пшеницы выявили два генотипа, а с твердой – пять, из них четыре были представлены двумя и более изолятами, а один был уникальным. Общие SSR-генотипы в популяциях *P. triticina* с твердой и мягкой пшеницы не выявлены (Гультяева и др., 2016).

Далее мы Gultyayeva, Shaydayuk, Kazartsev et al. (2018) оценили полиморфизм микросателлитных локусов у дагестанских изолятов *P. triticina*, полученных с диплоидных, тетраплоидных и гексаплоидных видов *Triticum* и *Aegilops*. В анализ включили также казахстанские изоляты с твердой пшеницы. Оказалось, что казахстанский генотип *P. triticina* с *T. durum* достоверно отличался от всех дагестанских изолятов с других видов-хозяев и от казахстанских изолятов с мягкой пшеницы. Дагестанские изоляты с мягкой пшеницы, также отличались от всех дагестанских изолятов. Полученные сведения указывают на определенные географические различия между изученными группами изолятов (Gultyayeva et al., 2018).

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 МАТЕРИАЛ ИССЛЕДОВАНИЙ

Листья твердой пшеницы с урединиопустулами *P. triticina* были собраны в 2017-2019 гг. в Северо-Кавказском, Средневолжском, Уральском и Западно-Сибирском регионах (рис. 2).

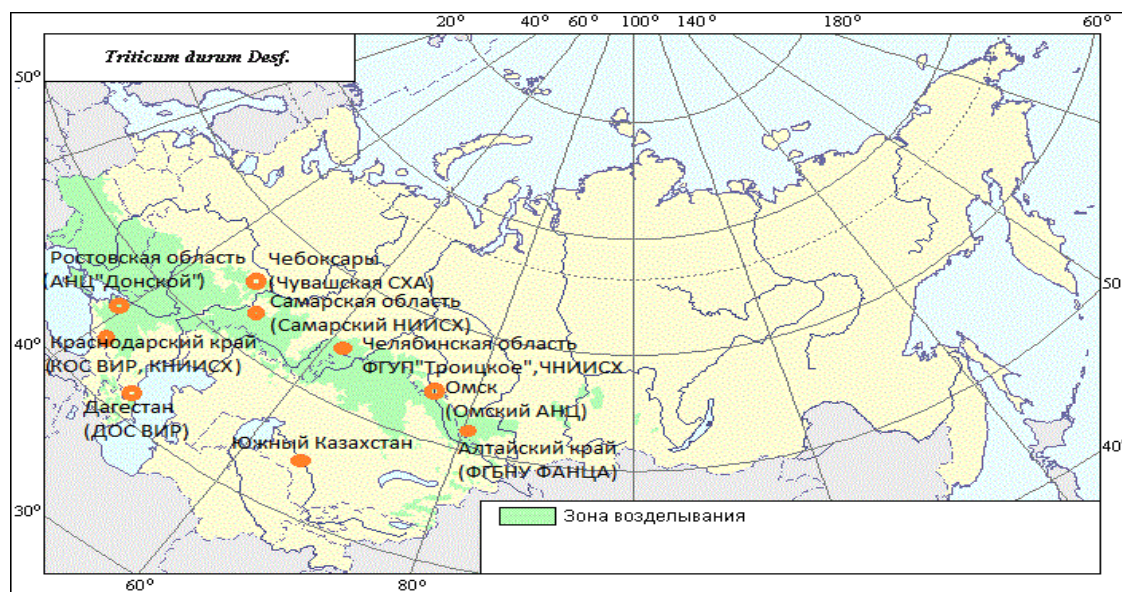


Рисунок 2 – Места сбора инфекционного материала

В 2017 году сборы проведены: в Дербенте на коллекционном посеве Дагестанской опытной станции ВИР (ДОС ВИР), в Краснодарском крае на коллекционном участке Кубанской опытной станции ВИР (КОС ВИР), в Самарской области на экспериментальном поле Самарского НИИСХ, в Алтайском крае на селекционных посевах Федерального Алтайского научного центра агробιοтехнологий (ФАНЦА) (таблица 2).

В 2018 году инфекционный материал собран на ДОС ВИР, КОС ВИР, в Ростовской области (АНЦ «Донской», Зерноград), в Чувашии (Чувашская СХА, Чебоксары), в Самарской области (Самарский НИИСХ), в Челябинской области (ФГУП «Троицкое»), в Омской области (селекционный участок Омского АНЦ; экспериментальное поле Омского ГАУ (табл. 2). В исследование также включили 6 образцов популяций *P. triticina*, собранных в Южном Казахстане.

Таблица 2 – Происхождение инфекционного материала *Puccinia triticina*, собранного на твердой пшенице

Места сбора	Образец пшеницы	Число изолятов
1	2	3
2017 г.		
Дагестан	Aydin-93	5
	Rusticano	5
	Torrebianca (Италия)	7
	Kofa Италия	8
	MEGAT-2002 (Турция)	6
	Firat 93 Турция	8
	Cuney Vildizi	4
	Kunduru 1149 (Турция)	6
	Харьковская 119	7
	AMA D3D3-1182/14	3
	AMA D3D3-1180/14	9
	AMA D3D3-1183/14	7
Краснодарский край	Смесь сортов	8
Самарская обл.	Pietrafitia	8
	Quzrato	2
	Сорт неизвестен	7
Алтайский край	Сорт неизвестен	5
2018 г.		
Краснодарский край	к-38091 (Болгария),	4
	к-42649 Гордеиформе 788 (Болгария)	2
	к-42825 (Болгария)	2
	к-43510 (Болгария)	3
	к-61620 Леукурум 692Н 29-11 (Краснодарский край)	3
	к-61920 Леукурум 21 (Краснодарский край)	6
	к-43903 Новомичуринка (Украина)	2
	к-44137 Рамоникум 2587 (Украина)	2
	к-45867 (Украина)	4
	к-45912 Харьковская 909 (Украина)	5
	к-51858 (Молдавия)	3
	к-59899 Roclur (Румыния),	3
	к-61914 BGR 5962 (Болгария)	2
	к-61881 BGR 5773 (Болгария)	2
	к-61880 BGR 5722 (Болгария)	2
	к-61875 BGR 5725 (Болгария)	7
	к-61871 BGR 5702 (Болгария)	2
	к-61369 BGR 5354 (Болгария)	2
	к-44826 Кандиканс 91/60 (Украина)	2
	к-44461 (Болгария)	5
	смесь сортов	2

Продолжение таблицы 2.

1	2	3
Дагестан	к-58221 (Италия) Giorgio 302	6
	к-58224 (Италия) F.D.Filippo	6
	к-58225 (Италия) MG 26424	5
	к-58596 (Италия) Stirpe 50	6
	к-58602 (Италия) Pepe 593	4
	к-58604 (Италия) Aperi	4
	к-61650 (Италия) Alex 292	4
	к-43793 (Сан-Марино) Dugo 272	6
	к-20114 (Сардиния)	6
	к-20119 (Сардиния)	4
	к-20137 (Сардиния)	5
	к-57212 (Перу) Valiente	4
Ростовская обл.	Дончанка	8
	Прикумская 142	8
	Лазурит	8
	Донской янтарь	8
Самарская обл.	ISD- 22 (Италия)	10
	к-19359	8
Чувашия	Безенчукская Нива, Безенчукская юбил.	10
Челябинская обл.	Харьковская 46	3
	Безенчукская	4
	Дюранегро	3
	Дамсинская юбилейная	2
	Лавина	6
	Памяти Янченко	3
Омская обл.	Амфидиплоид 1	5
	Амфидиплоид 2	8
	Образец б/н 1	6
	Образец б/н 2	6
Казахстан	Смесь сортов	20
2019 г.		
Дагестан	к-48210 (Афганистан)	5
	к-54946 (Иран)	5
	к-34991 (Дагестан)	6
	к-35051 (Дагестан)	5
	к-35100 (Дагестан)	6
	к-35090 (Дагестан)	5
	к-35065 (Дагестан)	5
	к-34991 (Дагестан)	5
Ростовская обл.	Марат	5
	Шулындринка	5

Продолжение таблицы 2.

1	2	3
Краснодарский край	Андромеда	3
	Эйрена	4
	Добрянка	3
	Юбилярка	4
	589/13	4
	к-55614 (Молдавия) Melyanopus 1020	3
	к-55608 (Молдавия) Leukurum 988	3
	к-44363 (Болгария) affine, hordeiforme	3
	к-55600 (Молдавия) Apulicum 961	3
	к-66507 (Словения) IS Duragold	6
	к-55605 (Молдавия) Stebutii 893	3
	к-55594 (Молдавия) Melyanopus 818	4
	Образец б/н	4
	Смесь сортов	4
Самарская обл.	Триада	5
	Гибрид №1	5
	Гибрид №2	3
	Гибрид №3	4
	Гибрид №4	5
	Гибрид №5	6
Челябинская обл.	Образец б/н	7

В 2019 г. инфекционный материал был получен из Дагестана (ДОС ВИР), Краснодарского края (КНИИСХ, КОС ВИР), Ростовской области (АНЦ «Донской» (Зерноград)); Самарской области (Самарский НИИСХ) и Челябинской области (Челябинский НИИСХ) (табл. 2).

В 2017-2018 гг. были использованы также образцы популяций патогена, собранные с *T. aestivum*. Для сравнительного анализа вирулентности патогена на твердой и мягкой пшеницах.

Список образцов твердой пшеницы, используемых в иммунологических исследованиях (оценки устойчивости к изолятам *P. tritici* с твердой и мягкой пшеницы), представлен в таблице 3. Для изучения использовали 21 образец яровой твердой пшеницы, переданный из Казахстанско-Сибирской сети улучшения яровой пшеницы (КАСИБ) в 2017 году.

Таблица 3 – Список образцов яровой твердой пшеницы КАСИБ,
используемых в иммунологических исследованиях

№	Образец	№	Образец
1	Каргала 223	11	Гордеиформе 829
2	Каргала 228	12	Гордеиформе 864
3	Каргала 238	13	Гордеиформе 881
4	Линия 19003	14	Гордеиформе 04-76-5
5	Линия 19029	15	Гордеиформе 05-12-7
6	Гордеиформе 69-08-2	16	Гордеиформе 05-42-12
7	Гордеиформе 178-05-2	17	Леукурум 1429-10
8	Гордеиформе 2264	18	Леукурум 1506-36
9	Гордеиформе 2383	19	Гордеиформе 1591-21
10	Линия 9-25-016	20	Аннушка
		21	Луч 25

2.2 МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ ПОПУЛЯЦИЙ *PUSSINIA TRITICINA*

2.2.1 АНАЛИЗ ВИРУЛЕНТНОСТИ

Размножение инфекционного материала и анализ вирулентности проводили с использованием 10-14 - дневных проростков пшеницы (фаза первого листа) (рис. 3а). В отдельных случаях для реанимации популяций использовали метод отрезков листьев, помещенных в раствор бензимидазола (Михайлова и др., 1998). Для размножения популяций и коллекций монопустульных изолятов использовали восприимчивый сорт твердой пшеницы Памяти Чеховича и сорта мягкой пшеницы Инна, Thatcher, Michigan Amber. Семена сорта Памяти Чеховича были любезно предоставлены П.Н. Мальчиковым, а Michigan Amber – Ж.Н.Худокормовой.

Полученные образцы популяций *P. triticina*, представленные листьями с урединопустулами, реанимировали на восприимчивых сортах твердой и мягкой пшеницы. После проявления симптомов, вырезали сегмент листа с одной пустулой, которую размножали на отдельных изолированных растениях. Для предотвращения контаминации между изолятами, горшки с растениями, от момента заражения до сбора спор, были накрыты перфорированным полиэтиленом (рис. 3б), натянутым на проволочный каркас.

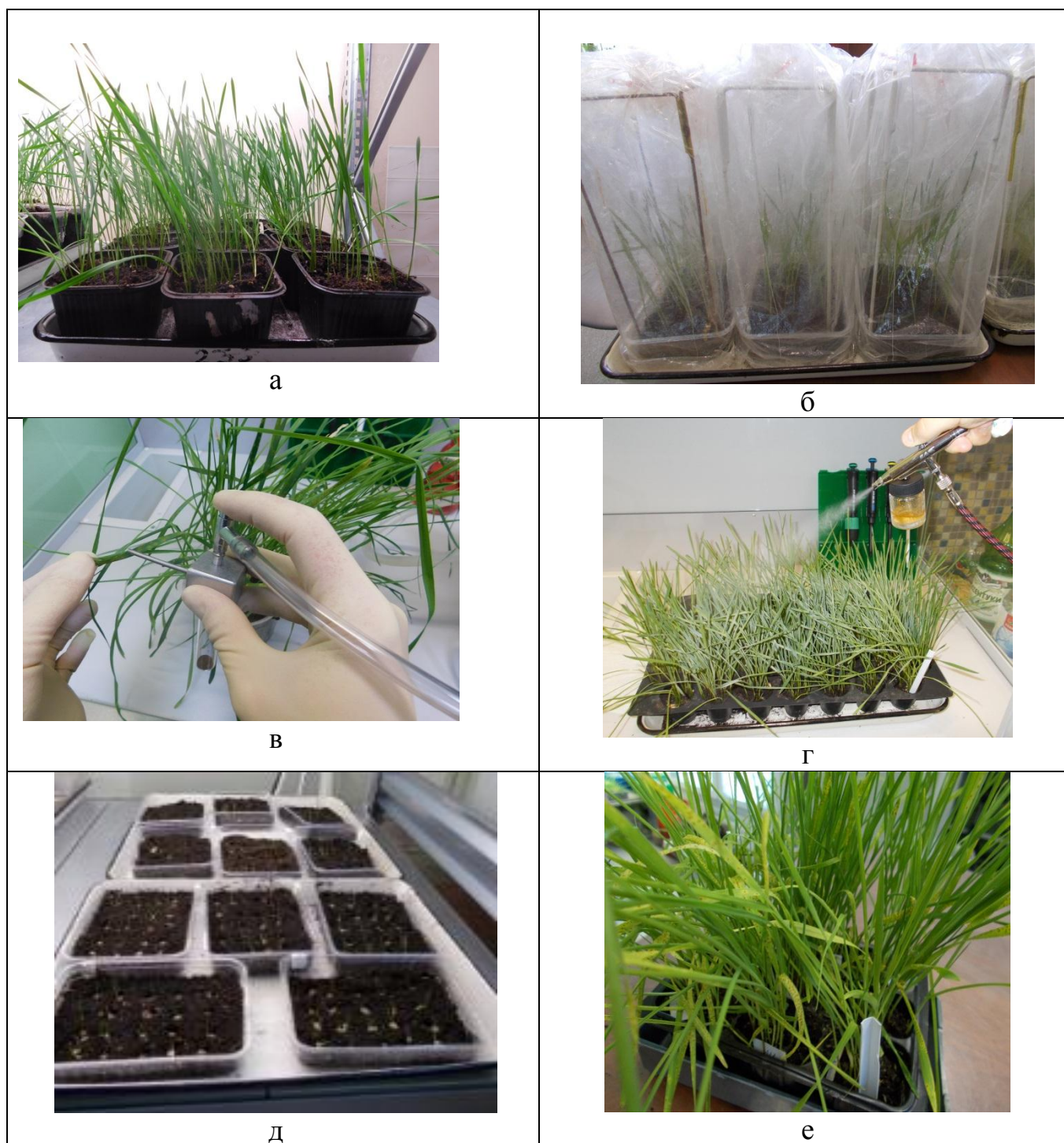


Рисунок 3 – Этапы работ по размножению изолятов *Puccinia triticina* и проведению анализа вирулентности

а – растения для размножения возбудителя, б – контейнеры с полиэтиленовыми каркасами, в – вакуумный насос с насадкой для сбора спор, г – инокуляция растений с использованием аэрографа, д – посев дифференциаторов, е – оценка устойчивости образцов твердой пшеницы.

Споровый материал собирали вакуумным насосом со специальной насадкой (рис. 3в). При необходимости получения большего количества спор выполняли повторное заражение растений с использованием водной суспензии спор с добавлением детергента Твин 80 (рис. 3 г).

Для анализа вирулентности *P. triticina*. использовали 37 почти моногенных линий сорта Thatcher и сорта с генами *Lr*. Список используемых дифференциаторов представлен в таблице 4.

Таблица 4 – Список изогенных линий Thatcher и сортов с *Lr*-генами, используемых для анализа вирулентности *Puccinia triticina*

Линия	Ген устойчивости	Линия	Ген устойчивости
RL6003	<i>Lr1</i>	RL6064	<i>Lr24</i>
RL6016	<i>Lr2a</i>	RL6078	<i>Lr26</i>
RL6019	<i>Lr2b</i>	RL6049	<i>Lr30</i>
RL6047	<i>Lr2c</i>	RL6086	<i>Lr32</i>
RL6002	<i>Lr3a</i>	RL6057	<i>Lr33</i>
RL6042	<i>Lr3bg</i>	RL6058	<i>Lr34</i>
RL6007	<i>Lr3ka</i>	KS90WGRC10	<i>Lr41(=39)</i>
RL6010	<i>Lr9</i>	KS91WGRC11	<i>Lr42</i>
RL 6004	<i>Lr10</i>	RL6147	<i>Lr44</i>
RL6053	<i>Lr11</i>	RL6144	<i>Lr45</i>
RL6013	<i>Lr14a</i>	Pavon 76	<i>Lr47</i>
RL6006	<i>Lr14b</i>	CSP44	<i>Lr48</i>
RL6052	<i>Lr15</i>	VL404№8677	<i>Lr49</i>
RL6005	<i>Lr16</i>	KS96WGRC36	<i>Lr50</i>
RL6008	<i>Lr17</i>	Neepawa*6/Ae. speltoides F7	<i>Lr51</i>
RL6009	<i>Lr18</i>	RL6107	<i>Lr52 (= W)</i>
RL6040	<i>Lr19</i>	98M71	<i>Lr53</i>
RL6092	<i>Lr20</i>	TA5602	<i>Lr57</i>
RL6012	<i>Lr23</i>	RL6149	<i>Lr64</i>

Для проведения анализа вирулентности по 3-5 зерен каждой *Lr*-линии сеяли в почву (рис. 3д). Инокуляцию дифференциаторов проводили на 10-14 день, с использованием водной суспензии спор каждого монопустульного изолята *P. triticina*. Контейнеры с растениями укрывали полиэтиленом (для сохранения влажности) и оставляли в темноте на 12 часов при температуре 20-23°C. После этого растения переносили на светоустановки и инкубировали при температуре 20-24°C и фотопериоде 14 часов день/10 часов ночь.

Учет типа реакции проводили через 10-12 дней после заражения по балловой шкале E.B. Mains и H. S. Jackson (1926), где: 0 – отсутствие симптомов; 0; – некрозы без пустул; 1 – очень мелкие пустулы, окруженные некрозом; 2 – пустулы среднего размера, окруженные некрозом или хлорозом; 3 – пустулы среднего размера без некроза, 4 – крупные пустулы без некроза, X – пустулы на одном и том же листе разных типов, присутствуют хлорозы и некрозы. Растения с типом реакции 0–2 относили к устойчивым, 3–4 и X – к восприимчивым.

Для обозначения фенотипов использовали буквенную номенклатуру, основанную на определении вирулентности к 5 группам *Lr*-линий: 1 – *Lr1*, *Lr2a*, *Lr2c*, *Lr3a*; 2 – *Lr9*, *Lr16*, *Lr24*, *Lr26*; 3 – *Lr3ka*, *Lr11*, *Lr17*, *Lr30*; 4 – *Lr2b*, *Lr3bg*, *Lr14a*, *Lr14b*; 5 – *Lr15*, *Lr18*, *Lr19*, *Lr20*. Первые три группы набора соответствовали североамериканскому набору (Long, Kolmer, 1989), остальные две группы включали линии, подобранные для дифференциации российских популяций *P. triticina* на мягкой пшенице. Представленные линии используются ежегодно в ВИЗР для характеристики расового состава российских популяций *P. triticina* на мягкой пшенице и других близкородственных видах (Гультяева и др., 2009, 2015, 2016).

2.2.2 ПРОВЕДЕНИЕ МИКРОСАТЕЛЛИТНОГО АНАЛИЗА

Для проведения молекулярного анализа использовали монопустульные изоляты патогена, предварительно охарактеризованные по признаку вирулентности. Происхождение изолятов, изученных с помощью микросателлитного анализа, представлено в таблице 5.

Выделение ДНК из спорового материала гриба проводили согласно методике А. Джастисен с соавторами (Justesen et al., 2002). Для этого 10-20 мг спор ржавчины переносили в пробирку 1,5 мл (типа Эппендорф), добавляли 200 мг стеклянных шариков (Glass beads unwashed 425-600 μ M, Sigma) и 700 мкл экстракционного буфера (2,5% D-sorbitol, 1% N-layroytsarcosime, 0.8% СТАВ, 0,8M NaCl, 20 mM EDTA, 1% PVP, 0.1M Tris pH).

Таблица 5 – Происхождение изолятов *Puccinia triticina*, используемых в микросателлитном анализе

Происхождение изолятов	Число изолятов
Северокавказские	
Дагестан	26
Краснодарский край	15
Ростовская обл.	11
Средневожские	
Самарская обл.	19
Чувашия	4
Уральские	
Челябинская обл.	14
Западносибирские	
Алтайский край	12
Омск	4
Южно-Казахстанские	
Алма-Атинская обл.	8

Для деструкции спор использовали гомогенизатор Fast Prep 120 (1 минута, 6,5 об/сек., два цикла). Далее добавляли 5 мкл протеиназы К (10 mgmL⁻¹). Инкубировали при 65 °С в течение 1,5 ч. Суспензию аккуратно смешивали с 500 мкл хлороформа и центрифугировали при 18 °С 5 минут (17000 g). Отбирали супернатант и добавляли 4 мкл R-nase (10 mgmL⁻¹). Инкубировали при температуре 37°С – 1 ч и добавляли равный объем хлороформа. Центрифугировали при 18 °С 5 минут (17000 g), отбирали супернатант и осаждали равным объемом изопропанола (-20 °С). В течение 5 минут пробирки выдерживали на льду, после чего центрифугировали при 18 °С 5 минут (17000 g). Спирт сливали, осадок промывали 70% этанолом, 5 мин выдерживали, затем спирт сливали и осадок подсушивали. ДНК растворяли в 100 мкл ТЕ-буфера (10mM Трис, pH 8,0, 1mM ЭДТА).

Для определения полиморфизма микросателлитных локусов первоначально протестировали 25 маркеров, подобранных для оценки генетической изменчивости гриба *P. triticina* в Cereal Diseases Laboratory (США) (Duan et al., 2003; Szabo, Kolmer, 2007). Стабильную воспроизводимость при постановке ПЦР с

образцами экстрактов ДНК *P. triticina* показали 11 маркеров. Эти маркеры представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Микросателлитные маркеры гриба *P. triticina*, используемые в исследованиях

Локус	Нуклеотидная последовательность	Диапазон выявляемых аллелей, п.о.	Литературный источник
PtSSR50	F: CATCGGAATGGTCTGTCTCC R: CCAAATGCTATGAGTGGAAAA	360-375	Szabo, Kolmer, 2007
PtSSR55	F: AGCTTACGGTCCTCAATCG R: AGTGAAAGGGGCTGGGAGT	300-310	
PtSSR61	F: CGAACTGGTACAACGCACTG R: CGCAAAAAGGCTGATCTCTG	290-305	
PtSSR68	F: GACTCAGCCCACTGCTAACC R: GATGGCGACGTATTTGGTCT	305-335	
PtSSR91	F: ATCTTGCGTCTCAGCCATCT R: CGCCGCTCTTCATCTCTTAC	380-390	
PtSSR92	F: CCAAGGAACAGTCCACCAAG R: GAGTCGGGTAAGCCATCTGA	240-255	
PtSSR151	F: TCATCGCACTCCACTCAGAC R: ATGCTGCCCAACCTGCTC	470-485	
PtSSR152	F: CTCCGTTCCCTCTTTCTGTCTG R: CCATCGCAACCAACAAACA	390-400	
PtSSR158	F: GACGACTTCGTCACTGCTGA R: GAGGAGAAGCCGTTCTGTTG	230-245	
RB8	F: CGCCGTTCCCATCGTTC R: TAAAACACTCCACCCACGCC	145-155	Duan et al., 2003
RB26	F: TCGTCCTGCCTACCTCTGAC R: AAAGTGCATGATCTGCATGTG	345-355	

Прямые праймеры данных маркеров были помечены флуоресцентными красителями FAM, TAMRA и HEX. ПЦР проводили с использованием амплификатора C1000 BioRad при следующих условиях: 95 °C — 3 мин, (95 °C — 30 с, 60 °C — 30 с, 72 °C — 30 с) — 30 циклов, 72 °C — 5 мин. Реакционная смесь содержала 2 мкл геномной ДНК, 2 мкл ПЦР буфера (10x без MgCl₂), 1 мкл MgCl₂ (50 mM), 1,6 мкл - смеси дезоксирибонуклеотидтрифосфатов - dNTP's (2,5 mM), 0,2 мкл фермента Taq-полимеразы (5 ед/мкл), по (1,5 – 2) мкл прямого и

обратного праймеров (10 пкМ/мкл) и стерильную бидистиллированную воду (общий объем пробы 20 мкл).

Концентрацию ПЦР продукта определяли в агарозном геле по интенсивности свечения ампликона в сравнении с маркером длины. При необходимости проводили разведение.

Проба для микросателлитного анализа включала 1 мкл маркера длины высокой плотности для фрагментного анализа LIZ 450 (внутренний стандарт S 450), который содержит 24 фрагмента длиной от 60 до 450 нуклеотидов; 1 мкл разведенной ПЦР-пробы соответствующей концентрации или нескольких ПЦР-проб, имеющих контрастные размеры продуктов амплификации или меченые разными флуоресцентными красителями (FAM, TAMRA, HEX) и 8 мкл формамида.

Для проведения микросателлитного анализа использовали генетический анализатор ABI Prism 3500 XL (ABI-Hitachi, Япония).

Размер аллелей определяли с помощью программы STRand Analysis Software, разработанной в Калифорнийском университете Дэвиса (<https://www.vgl.ucdavis.edu>). Скриншоты фрагментного анализа представлены на рисунке 4.

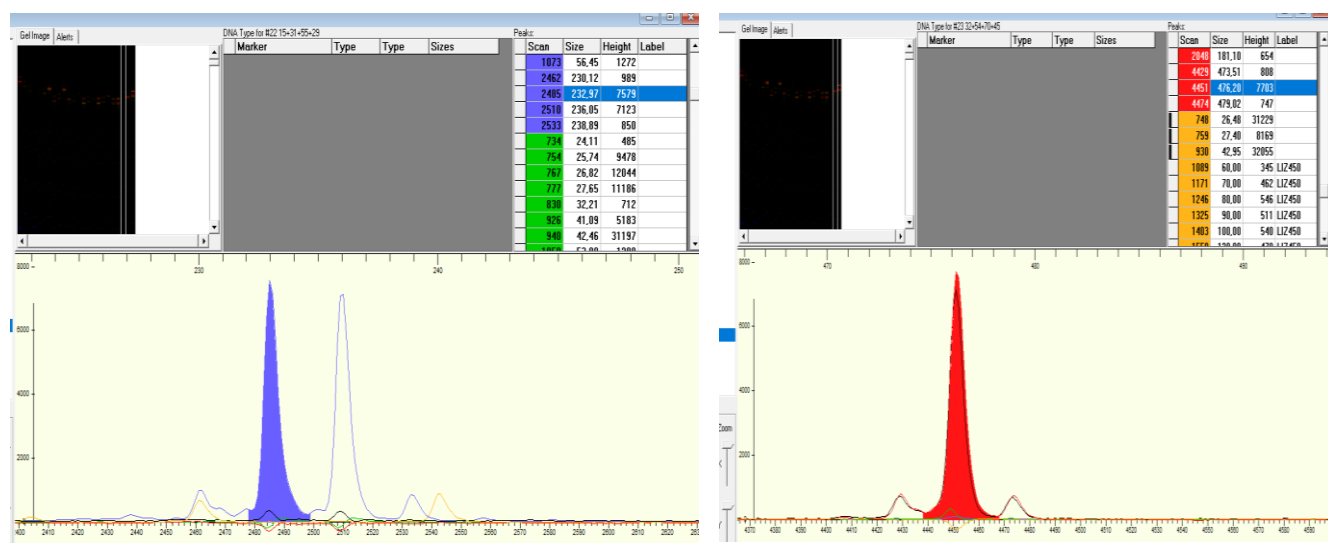


Рисунок 4 – Обработка результатов фрагментного анализа изолятов гриба *Puccinia triticina*

2.2.3 СТАТИСТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ

Для статистической обработки результатов анализа вирулентности использовали пакет программ VirulenceAnalysisTool (VAT) (Kosman et al., 2008). Внутрипопуляционное разнообразие *P. triticina* по вирулентности оценено с использованием индекса Нея (Nei Diversity, H_s), характеризующего разнообразие по частотам аллелей, индекса Шеннона (H') – разнообразие по фенотипам, и индекса Космана (Kosman diversity within (KW) – комплексное разнообразие по частотам аллелей и фенотипическому составу (Kosman et al., 2008) (табл. 7). Различия между популяциями по вирулентности оценивали с использованием индекса Нея (Nei distance, N), характеризующего генетическое расстояние по частотам аллелей (Nei, 1972), индекса Роджерса (Rogers distance, R) – по фенотипическому составу, индекса Космана (Kosman distance KBm) – по частотам вирулентности и фенотипическому составу (Kosman et al., 2008). Кроме того, использовали индекс генетических дистанций F_{st} , широко используемый в популяционных исследованиях, вычисление которого проводили с использованием алгоритма AMOVA в пакете программ GenAlEx.

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 следующие показатели: среднее число аллелей (N_a), число эффективных аллелей (N_e), ожидаемая (H_e) и наблюдаемая (H_o) гетерозиготность, индекс фиксации (F) и индекс Шеннона (I). Оценку различий между коллекциями изолятов различного географического происхождения проводили с использованием индексов генетических расстояний: Нея (Nei genetic distance), Космана (KBm) и F_{st} , которые были рассчитаны с помощью алгоритма AMOVA (для 999 пермутаций). Построение «древа» и группировка популяций в кластеры была выполнена с помощью алгоритмов типа UPGMA (методом нахождения ближайшего соседа, Evanno et al., 2005) в программе NTSYSpc 2.2 и с помощью опции Principal Coordinates (PCoA) в пакете программ GeneAlEx.

Таблица 7 – Показатели генетической изменчивости, используемые для характеристики *Puccinia triticina* по признаку вирулентности

Параметры	Источник
Параметры, описывающие внутрипопуляционное генетическое разнообразие	
Индекс Нея (Nei Diversity (Hs)) $H_s(P) = \frac{1}{k} \cdot \sum_{j=1}^k H_{sj}(P) = \frac{1}{k} \cdot \sum_{j=1}^k [1 - q_j^2 - (1 - q_j)^2],$ J=1,2,...,k k – общее число аллелей вирулентности, qj частота аллели вирулентности, 1-qj – частота аллели авирулентности. Для бинарной матрицы: $0 \leq H_s(P) \leq \frac{1}{2}.$	Nei, 1978
Индекс Шеннона нормализованный (Sh) Sh(A) $\Sigma p_i \ln(p_i) / \ln(n)$, где pi - частота i-того фенотипа, n – общее количество изолятов в популяции A.	Shannon, Weaver, 1949; Sheldon, 1969
Индекс Космана (Kosman diversity within (KW)) KW(A) = ASSmax(A,A)/nλ, где, ASSmax максимальное значение суммы расстояний между n сопряженными парами изолятов в популяции A, n соответствует общему числу изолятов в A, а λ - количество используемых линий - дифференциаторов.	Kosman, 1996; Kosman, Leonard, 2007
Параметры, характеризующие генетическую дифференциацию популяций	
Индекс Нея (Nei distance, N) $D = -\ln(I)$ $I = \frac{J_{xy}}{\sqrt{(J_x J_y)}}$ $J_{xy} = \sum_{i=1}^k p_{ix} p_{iy},$ $J_x = \sum_{i=1}^k p_{ix}^2, J_y = \sum_{i=1}^k p_{iy}^2$ где p_{ix} и p_{iy} – частоты аллелей в популяциях X и Y.	Nei, 1972
Индекс Роджерса (Rogers distance, R) R(A,B) = 0.5 pAi – pBi , где pAi , pBi – частоты i-того фенотипа в популяциях A и B	R.Rogers, 1972
Индекс Космана (Kosman distance KBm) KB(A,B) = ASSmin(A,B)/nλ, где ASSpmin – минимальное значение суммы расстояний между парами равного числа изолятов из популяций A и B, nλ – число линий - дифференциаторов.	Kosman, 1996; Kosman, Leonard, 2007
F- статистика Райта, индекс FST Fst=1/1+4Nm, Где: N - эффективный размер популяции, а m - степень миграции между популяциями	Giraud et al., 2008; Дьяков, Левитин, 2018

2.3 ФИТОПАТОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ СОРТОВ ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЫ

Изучали устойчивость к *P. triticina* 21 образца яровой твердой пшеницы. Исследования проводили в лабораторных условиях в фазе проростков. Данный набор образцов твердой пшеницы в 2017 г. был высеян в Пушкинских лабораториях ВИР (Санкт-Петербург, Пушкин) и искусственно заражен сборной северо-западной популяцией *P. triticina*. Учет поражения проводили в разные фазы развития растений.

Кроме того, устойчивость к патогену образцов данной коллекции была оценена в рамках программы исследований КАСИБ в 2017-2018 гг. условиях Северного Казахстана (НИИ Биологической безопасности, Казахстан, данные к.б.н. А. Рсалиева) и Западной Сибири (Омская область, Омский АНЦ, данные к.с-х.н. В.С. Юсова).

Для изучения устойчивости к патогену в фазе проростков по 3-5 зерен каждого сорта сеяли в почву. Через 10-14 дней проростки инокулировали водной суспензией изолятов *P. triticina* и помещали во влажную камеру в темноту на 10-12 ч. После этого растения переносили на светоустановку и инкубировали при температуре 20-23°C при фотопериоде 14 часов день и 10 часов ночь.

Для инокуляции использовали 19 изолятов патогена с твердой и мягкой пшеницы, характеристика которых представлена в таблицах 8-9. Изоляты были выделены из популяций, собранных в географически отдаленных регионах РФ: Северный Кавказ (Дагестан, Краснодарский, Ставропольский края), Поволжье (Самарская обл., Чувашия), Урал (Челябинск), Западная Сибирь (Омская, Новосибирская обл.), европейская часть (Северо-Запад, ЦЧР) и Казахстане. Учет типа реакции на заражение проводили на 10-14 день после инокуляции по приведенной ранее шкале Майнса и Джексона (раздел 2.2.1).

Таблица 8 – Характеристика вирулентности изолятов *Puccinia triticina* с твердой пшеницы, используемых для заражения образцов яровой твердой пшеницы

Изолят	Происхождение	Вирулентность	Авирулентность
C_1d	Дагестан, 2018	1,3a,3bg,3ka,10,14a,14b,18,23,26,30,44	2a,2b,2c,9, 5,16,17,19,20,24
C_2d		1,3a,3bg,3ka,10,14a,14b,18,23,26,30,44	2a,2b,2c,9, 15,16,17,19,20,24
NC_1d	Краснодарский край, 2018	1,3a,3bg,3ka,10,14a,14b,18,23,26,30,44	2a,2b, 2c,9, 15,16, 17,19,20,24
NC_3d	Ростовская обл., 2018	1,3a,3bg,3ka,10,14a,14b,18,23,26,30,44	2a,2b,2c,9, 15,16, 17,19,20,24
WS_5d	Омская обл., 2018	1,3a,3bg,3ka,10,14a, 14b,18,20,23,26,30,	2a,2b,2c,9,15,16,17,19,24
WS_6d		1, 3a,3bg,3ka,10,14a, 14b, 17,18,26,30	2a,2b,2c,9,15,16,19,20,23,24,44
V_1d	Самарская обл., 2018	1,3a,3bg,3ka,10,14a,14b,18,23,26,30	2a,2b,2c, 9,15,16, 17,19, 20,24, 44
V_2d		1,3a,3bg,3ka,10,14a,14b,18,23, 26,30	2a,2b,2c,9,15,16,17,19, 20,24, 44
K_1d	Казахстан,2018	1,3a,3bg,3ka,14a14b,18,23,26,30	2a,2b,2c,9,15,16,17,19,20,44

Таблица 9 – Характеристика вирулентности изолятов *Puccinia triticina* с мягкой пшеницы, используемых для заражения образцов яровой твердой пшеницы

Изолят	Происхождение	Вирулентность	Авирулентность
C_3a	Дагестан, 2018	1,3a,3bg,3ka,10,14a,14b,17,18,23,26,30,44	2a,2b,2c,9,15,16,19,20,24
NC_2a	Краснодарский край, 2018	1,3a,3bg,3ka,10,14a,14b,17,18,20,23,26, 30,44	2a,2b, 2c,9, 15,16,19,24
NC_4a	Ростовская обл., 2018	1,3a,3bg,3ka,10,14a,14b,16,17, 18,26,30,44 23	2a,2b,2c,9,15,19,20,24
WS_1a	Новосибирская обл. 2018	1,2a,2b,2c,3a,3bg,3ka,10,14a,14b,15,17,18, 20,30	9,16,19,23, 24,26,44
WS_2a		1,2a,2b,2c,3a,3bg,3ka,10,14a,14b,15,17,18, 20,23,26,30	9,16,19,24,44
WS_3a	Омская обл., 2018	1,2a,2b,2c,3a,3bg,3ka,10,14a,14b,15,16, 17,18, 20,26,30	9,19,23,24,44
WS_4a		1,2a,2b,2c,3a,3bg,3ka,9,10,14a, 14b,15,17,18,30	16,19,20,23,24,26,44
V_3a	Самарская обл., 2018	1,3a,3bg,3ka,9,10,14a,14b,17,18, 20,23,30	2a,2b,2c,15,16,19,24,26,44
V_4a	Чувашия, 2018	1,2a,2b,2c,3a,3bg,3ka,10,14a,14b,15,17,18, 20, 23,30	9,16,19,20,44
NW	Ленинградская обл.,2015	1,2a,2b,2c,3a,3bg,3ka,10,14a,14b,15,16,17, 18,20,21,30,44	9,19,23,24,26(реакция1-2)

2.4 ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДНК-МАРКЕРОВ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ *Lr*- ГЕНОВ У ОБРАЗЦОВ ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЫ

Для изучения генетического разнообразия образцов твердой пшеницы провели идентификацию у них генов устойчивости к бурой ржавчине (*Lr*-генов).

ДНК выделяли из листьев 7-10-дневных проростков образцов твердой пшеницы по методике, предложенной Edwards et al. (1991) в модификации Дорохова и Клоке (1997).

Амплификация ДНК выполнена в реакционной смеси по предложенным авторами протоколам. При необходимости была проведена модификация условий 10). Концентрация ДНК в рабочем растворе составляла 50-100 нг/мкл. Полимеразную цепную реакцию проводили в амплификаторе MyCycler Thermal Cycler (BioRad, США). Список используемых маркеров представлен в таблице 10.

Таблица 10 – Характеристика ПЦР маркеров

<i>Lr</i> -ген	Литературный источник	Нуклеотидная последовательность	Условия проведения ПЦР
1	2	3	4
<i>Lr1</i>	Turka et al., 2004	F: CAA GTG TTG AGA AGG AGA GT R: GGG ACA GAG ACC TTG GTG GA	95° – 3 мин, 40 циклов (95° – 1 мин, 58° – 1 мин, 72° – 1 мин)
<i>Lr3a</i>	Sacco et al., 1998; Dieguez et al., 2006; Khan et al., 2005	F: GAC GAT GAT GAT TTG CTG CTG G R: GGC TGT CTA CAT CTT CTG CA	94° – 3 мин, 35 циклов (94° – 30 с, 60° – 30 с, 72° – 1 мин)
<i>Lr9</i>	Gupta et al., 2005	F: TGC GCC CTT CAA AGG AAG R: TGC GCC CTT CTG AAC TGT AT	95° – 2 мин, 30 циклов (94° – 1 мин, 64° – 1 мин, 72° – 1 мин)
<i>Lr10</i>	Chelkowski et al., 2008	F: GTG TAA TGC ATG CAG GTT CC R: AGG TGT GAG TGA GTT ATG TT	94° – 3 мин, 35 циклов (94° – 45 с, 57° – 45 с, 72° – 30 с)
<i>Lr19</i>	Gupta et al., 2006	F: GGC GGA TAA GCAG AGCA GAG R: GGC GGA TAA GTG GGT TAT GG	95° – 2 мин, 35 циклов (94° – 1 мин, 60° – 1 мин, 72° – 1 мин)

Продолжение таблицы 10.

1	2	3	4
<i>Lr20</i>	Blaszczyk et al, 2008	F: ACA GCG ATG AAG CAA TGA AA R: GTC CAG TTG GTT GAT GGA AT	94° – 3 мин, 40 циклов (94° – 1 мин, 62° – 1 мин, 72° – 2 мин)
<i>Lr24</i>	Mago et al., 2005	F: CAC CCG TGA CAT GCT CGT A R: AAC AGG AAA TGA GCA CGA TGT	94° – 3 мин, 7 циклов (94° – 30 с, 65-59° (-1°/цикл) – 30 с, 72° – 40 с), 30 циклов (94° – 30 с, 58° – 30 с, 72° – 40 с)
<i>Lr24</i>	Cherukuri et al., 2003	F: TCG TCC AGA TCA GAA TGT G R: CTC GTC GAT TAG CAG TGA G	94° – 2 мин, 35 циклов (94° – 1 мин, 55° – 1 мин, 72° – 1 мин)
<i>Lr26</i>	Mago et al., 2005	F: CTC TGT GGA TAG TTA CTT GAT CGA R: CCTA GAA CAT GCA TGG CTG TTA CA	94° – 3 мин, 30 циклов (94° – 30 сек., 55° – 1 мин, 72° – 70 сек.)
	Weng et al., 2007	F: TGA CAA CCC CCT TTC CCT CGT R: TCA TCG ACG CTA AGG AGG ACC C	95°С – 3 мин., 30 циклов (94°С – 45сек., 60°С – 1 мин., 72°С – 90 сек.)
<i>Lr34</i>	Lagudah et al., 2006	F: GTT GGT TAA GAC TGG TGA TGG R: TGC TTG CTA TTG CTG AAT AGT	94° – 5 мин, 40 циклов (94° – 40 с, 55° – 30 с, 72° – 1 мин)
<i>Lr37</i>	Helguera et al., 2003	F: AGG GGC TAC TGA CCA AGG CT R: TGC AGC TAC AGC AGT ATG TAC ACA AAA	94° – 45 сек, 35 циклов (94° – 30 сек., 72° – 1 мин, 72° – 70 сек.)

ГЛАВА 3. СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИЙ *PUCCINIA TRITICINA* НА ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЕ ПО ПРИЗНАКУ ВИРУЛЕНТНОСТИ

Определение степени сходства по фенотипическому составу между споровыми образцами популяций, собранными в различных географических точках, позволяет судить о том, принадлежат ли они к одной или разным генеральным популяциям (Мироненко, 2010). Изучение структуры популяций возбудителя бурой ржавчины на твердой пшенице проводили в 2017-2019 гг. В популяционных исследованиях был использован инфекционный материал из Северо-Кавказского, Средневолжского, Уральского и Западно-Сибирского регионов, т.е. всех агроклиматических зон РФ, где возделывается твердая пшеница.

3.1 ВИРУЛЕНТНОСТЬ И ФЕНОТИПИЧЕСКИЙ СОСТАВ *PUCCINIA TRITICINA* В СЕВЕРО-КАВКАЗСКОМ РЕГИОНЕ

Дагестанскую коллекцию *P. triticina* изучали в 2017-2019 гг. В 2017 г проанализировано 75 изолятов с 10 сортов, в 2018 г – 60 изолятов с 11 сортов, в 2019 г – 42 изолята с 8 сортов. Все изученные изоляты были авирулентны к линиям с генами *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr2c*, *Lr9*, *Lr15*, *Lr16*, *Lr19*, *Lr24*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr41*, *Lr45*, *Lr47*, *Lr51*, *Lr52*, *Lr53* и вирулентны к линиям с ненами *Lr1*, *Lr3a*, *Lr3bg*, *Lr3ka*, *Lr11*, *Lr14a*, *Lr14b*, *Lr18*, *Lr30*, *Lr32*, *Lr33*, *Lr34*, *Lr44*, *Lr48*, *Lr49*, *Lr64*. Варьирование по вирулентности отмечено на линиях с генами *Lr17*, *Lr20*, *Lr23* и *Lr26*.

Большинство дагестанских изолятов были авирулентны к линии *TcLr17* и вирулентны к *TcLr26* и *TcLr23*. Вирулентность к *TcLr17* выявлена в 2018 г. у изолятов с образца *Aperì* (Италия) и в 2019 г. с образца к-35051 (Дагестан). Авирулентность к *Lr26* определена в 2017 году у изолятов, выделенных с линии твердой пшеницы *Audin 93* (Турция), а к *TcLr23* – в 2019 году у изолятов с линии к-48210. Более высокую изменчивость по вирулентности наблюдали на линии

TcLr20. В 2017 г. вирулентными к ней были изоляты с сортов Torregianca (Италия) и Cuneu Vildizi; в 2018 г. – изоляты с образцов к-61650 (Италия), к-20114 (Сардиния), к-57212 (Перу); в 2019 г. – изоляты с образцов к-48210 (Афганистан), к-54946 (Иран), к-34991, к-35051 (Дагестан). Сводные данные по вирулентности дагестанской популяции представлены в таблице 11.

Фенотипический состав *P. triticina* по вирулентности определяли с использованием 20 TcLr-линий. Фенотипы, идентифицированные в дагестанской популяции, представлены таблице 12. Фенотипы MCRKH и MCRKG, различающиеся между собой вирулентностью к Lr20, доминировали во все годы исследований. Фенотип MBRKG, отличающийся от них вирулентностью к Lr26, отмечен только в 2017 г., а фенотип MCTKG, вирулентный к Lr17, – в 2018 и 2019 годах.

Таблица 11 – Частоты вирулентности *Puccinia triticina* в Северо-Кавказском регионе (%)

Линии с генами Lr	Дагестан				Краснодарский край				Ростовская область			Среднее по региону 2017-2019 гг.
	2017	2018	2019	Среднее	2017	2018	2019	Среднее	2018	2019	Среднее	
2a, 2b, 2c, 9, 15, 16, 19, 24, 28, 29, 41, 45, 47, 51, 52, 53	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
17	0	7	12	6	0	8	9	6	0	0	0	7
20	15	30	38	28	0	49	9	19	0	50	17	25
23	100	100	88	96	100	79	92	90	100	100	100	95
26	93	100	100	97	100	100	100	100	100	100	100	98
1, 3a, 3bg, 3ka, 11, 14a, 14b, 18, 30, 32, 33, 34, 44, 48, 49, 64	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Изучено изолятов	75	60	42	177	8	65	51	124	32	10	42	343

Таблица 12 – Частоты фенотипов *Puccinia triticina* в Северо-Кавказском регионе (%)

Фенотипы	Авирулентность к линиям Thatcher с генами <i>Lr</i>	Дагестан				Краснодарский край				Ростовская обл.			Среднее по региону 2017-2019 гг.
		2017	2018	2019	Среднее	2017	2018	2019	Среднее	2018	2019	Среднее	
MCRKG	2a, 2b, 2c, 9, 15, 16, 17, 19, 20, 24	78	63	50	64	100	43	84	76	100	50	75	71
MCRKH	2a, 2b, 2c, 9, 15, 16, 17, 19, 24	15	30	38	28	0	41	8	16	0	50	25	23
MCTKG	2a, 2b, 2c, 9, 15, 16, 19, 20, 24	0	7	12	6	0	8	8	5	0	0	0	4
MCTKH	2a, 2b, 2c, 9, 15, 16, 19, 24	0	0	0	0	0	8	0	3	0	0	0	1
MBRKG	2a, 2b, 2c, 9, 15, 16, 17, 19, 20, 24, 26	7	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0,7

Анализ краснодарской коллекции *P. triticina*. В 2017 г. проанализировано 8 изолятов, полученных из сборной популяции патогена, в 2018 г. – 65 изолятов с 21 образца твердой пшеницы, в 2019 г. – 51 изолят с 14 образцов. Все монопустульные изоляты были авирулентными к линиям с генами *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr2c*, *Lr9*, *Lr15*, *Lr16*, *Lr17*, *Lr19*, *Lr24*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr41*, *Lr45*, *Lr47*, *Lr51*, *Lr52*, *Lr53* и вирулентными к *Lr1*, *Lr3a*, *Lr3bg*, *Lr3ka*, *Lr11*, *Lr14a*, *Lr14b*, *Lr18*, *Lr23*, *Lr26*, *Lr30*, *Lr32*, *Lr33*, *Lr34*, *Lr44*, *Lr48*, *Lr49*, *Lr64* (табл. 11). Варьирование по вирулентности отмечено на линиях с генами *Lr17*, *Lr20* и *Lr23*. Вирулентность к *Lr17* в 2018 г. отмечена у изолятов, выделенных с сорта Харьковская 909 (Украина), а в 2019 г. – с образца к-55594 (Молдавия). Вирулентность к *Lr20* в 2018 г. отмечена на 8 образцах твердой пшеницы (Леукурум21 (Краснодарский край), Рамоникум 2587, Харьковская 909 (Украина), BGR5962, BGR5354, BGR5725 (Болгария), Roclur (Румыния), к-51858(Молдавия)), а в 2019 г. – на одном образце. Авирулентность к *Lr23* отмечена на трех образцах в 2018 г. (к-44461, к-38091 (Болгария), Харьковская 909 (Украина)) и на одном – в 2019 г. (к-55608 (Молдавия)).

Фенотипический состав краснодарских образцов популяций *P. triticina* представлен таблице 12. В 2017 году определен 1 фенотип MCRKG, что, вероятно, было обусловлено малым числом проанализированных изолятов. В 2018 г. выявлено четыре фенотипа, в 2019 г. три фенотипа. Фенотипы MCRKH, MCRKG, MCTKG были общими для двух лет исследований и идентичны выявленным в дагестанской популяции. Фенотип MCTKH был уникальным для краснодарской популяции 2018 г.

Изучение ростовской коллекции *P. triticina* проводили в 2018-2019 годах. В 2018 году проанализировано 32 изолята с четырех сортов твердой пшеницы, в 2019 году – 10 изолятов с двух сортов. Все монопустульные изоляты были авирулентными к линиям с генами *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr2c*, *Lr9*, *Lr15*, *Lr16*, *Lr19*, *Lr24*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr41*, *Lr45*, *Lr47*, *Lr51*, *Lr52*, *Lr53* и вирулентными к *Lr1*, *Lr3a*, *Lr3bg*, *Lr3ka*, *Lr11*, *Lr14a*, *Lr14b*, *Lr18*, *Lr30*, *Lr32*, *Lr33*, *Lr34*, *Lr44*, *Lr48*, *Lr49*, *Lr64* (табл. 11). Варьирование по вирулентности отмечено только на линии TcLr20 в 2019 г. Изоляты с сорта Шулындрипка были авирулентными, а с сорта Марат – вирулентными. В ростовских образцах *P. triticina* в 2018 г. выявлен один фенотип MCRKH, в 2019 г. – два MCRKH и MCRKG, которые различались между собой по вирулентности к *Lr20*.

Анализ образцов северокавказских популяций с твердой пшеницы выявил их умеренное разнообразие (табл. 13). Число аллелей вирулентности у дагестанских, краснодарских и ростовских изолятов было близким по значению (10,2-10,4). Согласно индексам Нея, Шеннона, Космана, характеризующим внутривидовое разнообразие, краснодарские и дагестанские образцы *P. triticina* были более разнообразны ($H_s=0,03$; $H_h=0,17-0,19$; $KW_m=0,03-0,04$), чем ростовские ($H_s=0,01$; $H_h=0,1$; $KW_m=0,01$), что обусловлено, вероятно, более высокой представленностью в анализе сортов-источников инфекционного материала.

Таблица 13 – Показатели разнообразия северокавказской популяции *Puccinia triticina* по признаку вирулентности (2017-2019 гг.)

Показатель	Дагестан	Краснодарский край	Ростовская область	СК ^б
Среднее число аллелей вирулентности ^а	10,2	10,4	10,2	10,3
Число фенотипов	4	4	2	5
Фенотипы	MCRKG MCRKH MCTKG MBRKG	MCRKG MCRKH MCTKG MCTKH	MCRKG MCRKH	MCRKG MCRKH MCTKG MCTKH MBRKG
Индексы внутривидового разнообразия:				
Нея, Hs	0,03	0,03	0,01	0,03
Шеннона, Sh	0,17	0,19	0,1	0,15
Космана, KWm	0,03	0,04	0,01	0,03

^а При анализе на 20 линиях-дифференциаторах.

^б сводные результаты для Северо-Кавказского (СК) региона

Согласно индексам генетических дистанций Нея (Nei distance, N_d) и Роджерса (Rogers distance, R) все северокавказские образцы популяций характеризовались высоким сходством по вирулентности и фенотипическому составу (табл. 14).

Таблица 14 – Индексы генетических дистанций между образцами северокавказских популяций *Puccinia triticina* (2017-2019 гг.)

Происхождение популяции	Дагестан	Краснодарский край
Nei distance, N		
Краснодарский край	0	x
Ростовская обл.	0,001	0,002
Rogers distance, R		
Краснодарский край	0,063	x
Ростовская обл.	0,214	0,247

3.2 ВИРУЛЕНТНОСТЬ И ФЕНОТИПИЧЕСКИЙ СОСТАВ *PUCCINIA TRITICINA* В СРЕДНЕВОЛЖСКОМ РЕГИОНЕ

Средневожские образцы популяций *P. triticina* изучили в 2017-2019 гг. В 2017 г. изучено 17 самарских изолятов с трех образцов твердой пшеницы, в 2018 г. – 18 самарских изолятов с двух образцов, и 10 чувашских изолятов с двух сортов, в 2019 г. – 28 самарских изолятов с шести образцов. Всего изучено 73 монопустульных изолята.

Все изученные изоляты были авирулентны к линиям с генами *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr2c*, *Lr9*, *Lr15*, *Lr16*, *Lr19*, *Lr24*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr41*, *Lr44*, *Lr45*, *Lr47*, *Lr51*, *Lr52*, *Lr53* и вирулентными к *Lr1*, *Lr3a*, *Lr3bg*, *Lr3ka*, *Lr11*, *Lr14a*, *Lr14b*, *Lr18*, *Lr23*, *Lr30*, *Lr32*, *Lr33*, *Lr34*, *Lr48*, *Lr49*, *Lr64* (табл. 15). Варьирование по вирулентности отмечено на линиях с генами *Lr17*, *Lr20* и *Lr26*. В отличие от северокавказских изолятов, большинство волжских были вирулентными к линии *TcLr17*. Только два авирулентных изолята выявлено в 2018 г. на линии твердой пшеницы *ISD-22*. Авирулентность к *Lr26* отмечена в 2019 г. у изолятов с сорта Триада. Все изоляты с этого сорта оказались вирулентными к линии *TcLr20*, в отличие от других, изученных в 2019 г.

Таблица 15 – Частоты вирулентности *Puccinia triticina* в Средневожском регионе (%)

Линии с генами <i>Lr</i>	Самарская обл.				Чувашия	Среднее по региону 2017-2019 гг.
	2017	2018	2019	Среднее	2018	
<i>2a, 2b, 2c, 9, 15, 16, 19, 24, 28, 29, 41, 44, 45, 47, 51, 52, 53</i>	0	0	0	0	0	0
<i>17</i>	100	89	100	96	100	98
<i>20</i>	53	0	18	24	0	19
<i>26</i>	100	100	82	94	100	98
<i>1, 3a, 3bg, 3ka, 11, 14a, 14b, 18, 23, 30, 32, 33, 34, 44, 48, 49, 64</i>	100	100	100	100	100	100
Изучено изолятов	17	18	28	63	10	73

В средневолжской популяции *P. triticina* выявлено четыре фенотипа вирулентности (МВТКН, МСРКГ, МСТКГ, МСТКН) (табл. 16, 17). Фенотип МСТКГ был представлен во все годы исследований. Этот фенотип был идентифицирован и в северокавказской популяции, однако частота его была значительно ниже (4%) (табл. 12). Общими фенотипами в северокавказской и средневолжской популяциях были МСРКГ и МСТКН. При этом частота фенотипа МСРКГ в средневолжской популяции значимо ниже (3%), чем в северокавказской (71%), а фенотипа МСТКН – выше (12% и 1% соответственно).

Таблица 16 – Частоты фенотипов *Puccinia triticina* в Средневолжском регионе (%)

Фенотипы	Авирулентность к линиям Thatcher с генами <i>Lr</i>	Самарская обл.				Чувашия	Среднее по региону 2017-2019 гг.
		2017	2018	2019	Среднее	2018	
МВТКН	2a, 2b, 2c, 9, 15 16, 19, 24, 26	0	0	18	6	0	7
МСРКГ	2a, 2b, 2c, 9, 15 16, 17, 19, 20, 24	0	11	0	4	0	3
МСТКГ	2a, 2b, 2c, 9, 15 16, 19, 20, 24	47	89	82	73	100	78
МСТКН	2a, 2b, 2c, 9, 15 16, 19, 24	53	0	0	18	0	12

Таблица 17 – Характеристика разнообразия средневолжской популяции *Puccinia triticina* на твердой пшенице по признаку вирулентности (2017-2019 гг.)

Показатель	Самарская обл.			Чувашия	СВ ^б
	2017	2018	2019	2018	
Среднее число аллелей вирулентности ^а	11	10,9	11	11	11
Число фенотипов	2	2	2	1	4
Фенотипы	МСТКГ МСТКН	МСТКГ МСРКГ	МСТКГ МВТКН	МСТКГ	МСТКГ МСТКН МВТКН МСРКГ
Индексы внутривидового разнообразия:					
Нея, Hs	0,025	0,01	0,029	0	0,025
Шеннона, Sh	0,244	0,121	0,141	0	0,171
Космана, KWm	0,047	0,011	0,036	0	0,029

^а при анализе на 20 линиях-дифференциаторах.

^б сводные результаты для Средневолжского (СВ) региона

Параметры разнообразия средневолжских образцов популяций *P. triticina* представлены в таблице 17. Число аллелей вирулентности у средневолжских изолятов *P. triticina* было несколько выше (11), чем у северокавказских (10,3). Значения индексов Нея, Шеннона, Космана, характеризующих внутривидовое разнообразие средневолжской популяции *P. triticina*, были на сходном уровне с северокавказской (табл. 13, 17).

3.3 ВИРУЛЕНТНОСТЬ И ФЕНОТИПИЧЕСКИЙ СОСТАВ *PUCCINIA TRITICINA* В УРАЛЬСКОМ РЕГИОНЕ

Челябинские образцы популяций *P. triticina* изучали в 2018-2019 гг. В 2018 г. изучили 21 монопустульный изолят, выделенный с шести сортов твердой пшеницы, в 2019 г. – 7 изолятов с одного сорта (табл. 18).

Таблица 18 – Частоты вирулентности *Puccinia triticina* в Уральском регионе в 2018-2019 гг. (%)

Линии с генами <i>Lr</i>	Челябинская обл.		У*
	2018	2019	
2a, 2b, 2c, 9, 15, 16, 19, 24, 28, 29, 41, 44, 45, 47, 51, 52, 53	0	0	0
20	48	0	36
23	43	71	57
26	62	57	61
1, 3a, 3bg, 3ka, 11, 14a, 14b, 17, 18, 30, 32, 33, 34, 44, 48, 49, 64	100	100	100
Изучено изолятов	21	7	28

* сводные результаты для Уральского (У) региона

Все изученные изоляты были авирулентны к линиям с генами *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr2c*, *Lr9*, *Lr15*, *Lr16*, *Lr19*, *Lr24*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr41*, *Lr44*, *Lr45*, *Lr47*, *Lr51*, *Lr52*, *Lr53* и вирулентны к *Lr1*, *Lr3a*, *Lr3bg*, *Lr3ka*, *Lr11*, *Lr14a*, *Lr14b*, *Lr17*, *Lr18*, *Lr30*, *Lr32*, *Lr33*, *Lr34*, *Lr48*, *Lr49*, *Lr64* (табл. 18). Варьирование по вирулентности отмечено на линиях с генами *Lr20*, *Lr23* и *Lr26*. Все уральские изоляты оказались вирулентными к линии *TcLr17*. Частота авирулентных к *TcLr26* изолятов в челябинской популяции была выше (61%), чем в средневолжской и северокавказской (2%). В 2017 г. они выявлены на трех из шести включенных в

исследования сортах-источниках инфекции *P. triticina* (Duranegro, Дамсинская юбилейная, Харьковская). Изоляты с этих же сортов были авирулентны к линии TcLr23.

В челябинских образцах популяций *P. triticina* выявлено три фенотипа (табл. 19, 20), два из них (МСТКГ и МВТКГ) отмечены в оба года исследований (частоты 14-57% и 38-43% соответственно). Фенотипы МСТКГ и МСТКН были общими для уральской, северокавказской и средневолжской популяций *P. triticina*. Однако частота их существенно варьировала по регионам: МСТКГ - 4% , МСТКН 1% - Северо-Кавказский (табл. 12), 78% и 12% - Средневолжский (табл. 16), 36% и 39% - Уральский (табл. 19).

Таблица 19 – Частоты фенотипов *Puccinia triticina* в Уральском регионе (%)

Фенотипы	Авирулентность к линиям Thatcher с генами <i>Lr</i>	Челябинская обл.		У*
		2018	2019	
МСТКГ	2a, 2b, 2c, 9, 15 16, 19, 20, 24	14	57	25
МСТКН	2a, 2b, 2c, 9, 15 16, 19, 24	48	0	36
МВТКГ	2a, 2b, 2c, 9, 15 16, 19, 20, 24, 26	38	43	39

* сводные результаты для Уральского (У) региона

Таблица 20 – Разнообразие уральской популяции *Puccinia triticina* на твердой пшенице (2018-2019 гг.)

Показатель	Челябинская обл.		У ^б
	2018	2019	
Среднее число аллелей вирулентности ^а	11	10,5	11
Число фенотипов	3	2	3
Фенотипы	МСТКН МВТКГ МСТКГ	МСТКГ МВТКГ	МВТКГ МСТКН МСТКГ
Индексы внутрипопуляционного разнообразия:			
Нея, Нs	0,05	0,02	0,05
Шеннона, Sh	0,33	0,35	0,33
Космана, KWm	0,07	0,04	0,07

^а при анализе на 20 линиях-дифференциаторах.

^б сводные результаты для Уральского (У) региона

Параметры разнообразия образцов уральских популяций *P. triticina* представлены в таблице 20. Число аллелей вирулентности в уральской популяции

P. triticina было сходным со средневожской (11). Значения индексов Нея, Шеннона, Космана указывают на умеренное разнообразие челябинской популяции и несколько выше, чем для северокавказской и средневожской популяций (табл. 20).

3.4 ВИРУЛЕНТНОСТЬ И ФЕНОТИПИЧЕСКИЙ СОСТАВ *PUCCINIA TRITICINA* В ЗАПАДНО-СИБИРСКОМ РЕГИОНЕ

Западносибирская популяция была представлена пятью алтайскими изолятами, полученными в 2017 г. из сборной популяции патогена, и 25 омскими, выделенными в 2018 г. с двух образцов твердой пшеницы. Все изученные изоляты были авирулентными к линиям с генами *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr2c*, *Lr9*, *Lr15*, *Lr16*, *Lr19*, *Lr24*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr41*, *Lr44*, *Lr45*, *Lr47*, *Lr51*, *Lr52*, *Lr53* и вирулентными к *Lr1*, *Lr3a*, *Lr3bg*, *Lr3ka*, *Lr11*, *Lr14a*, *Lr14b*, *Lr17*, *Lr18*, *Lr30*, *Lr32*, *Lr33*, *Lr34*, *Lr48*, *Lr49*, *Lr64* (табл. 21). Все западносибирские изоляты, как и уральские, вирулентны к линии *TcLr17*. Варьирование по вирулентности отмечено в омской субпопуляции на линиях *TcLr20*, *TcLr23* и *TcLr26*. В алтайской популяции все изоляты были вирулентными к этим линиям. Показатели частот вирулентности к этим линиям сходны с уральской популяцией (табл. 18).

Таблица 21 – Частоты вирулентности *Puccinia triticina* в Западно-Сибирском регионе (%)

Линии с генами <i>Lr</i>	Алтай, 2017	Омск 2018	ЗС*
<i>2a, 2b, 2c, 9, 15, 16, 19, 24, 28, 29, 41, 44, 45, 47, 51, 52, 53</i>	0	0	0
<i>20</i>	100	20	33
<i>23</i>	100	52	60
<i>26</i>	100	76	80
<i>1, 3a, 3bg, 3ka, 11, 14a, 14b, 17, 18, 30, 32, 33, 34, 44, 48, 49, 64</i>	100	100	100
Число изолятов	5	25	30

* сводные результаты для Западно-Сибирского (ЗС) региона

В западносибирской популяции *P. triticina* определено три фенотипа, которые идентичны уральским (табл. 19, 22, 23). Омская субпопуляция патогена была представлена тремя фенотипами MBTKG, MCTKG, MCTKH (частоты 24%, 56%, 20% соответственно), алтайская – одним (MCTKH).

Частоты фенотипа MCTKH в Западно-Сибирском и Уральском регионах близки (33% и 36%). В Западной Сибири частота фенотипа MCTKG была выше, а фенотипа MBTKG – ниже.

Таблица 22 – Частоты фенотипов *Puccinia triticina* в Западно-Сибирском регионе (%)

Фенотипы	Авирулентность к линиям Thatcher с генами <i>Lr</i>	Алтай, 2017	Омск 2018	ЗС*
MBTKG	2a, 2b, 2c, 9, 15 16, 19, 20, 24, 26	0	24	20
MCTKG	2a, 2b, 2c, 9, 15 16, 19, 20, 24	0	56	47
MCTKH	2a, 2b, 2c, 9, 15 16, 19, 24	100	20	33

* сводные результаты для Западно-Сибирского (ЗС) региона

Таблица 23 – Разнообразие западносибирской популяций *Puccinia triticina* на твердой пшенице (2017-2019 гг.)

Показатели	Алтай, 2017	Омск 2018	ЗС ^б
Среднее число аллелей вирулентности ^а	12	11	11,1
Число фенотипов	1	3	3
Фенотипы	MCTKH	MCTKG MCTKH MBTKG	MCTKG MCTKH MBTKG
Индексы внутривидового разнообразия			
Нея, Hs	0	0,03	0,04
Шеннона, Sh	0	0,31	0,31
Космана, KWm	0	0,04	0,05

^а при анализе на 20 линиях-дифференциаторах.

^б сводные результаты для Западно-Сибирского (ЗС) региона

Параметры разнообразия образцов западносибирской популяций *P. triticina* представлены в таблице 23. Число аллелей вирулентности в западносибирской популяции средневожской и уральской популяциях идентично (11). Значения индексов Нея, Шеннона, Космана указывали на умеренное разнообразие западносибирской популяции патогена.

3.5 ВИРУЛЕНТНОСТЬ И ФЕНОТИПИЧЕСКИЙ СОСТАВ *PUCCINIA TRITICINA* В ЮЖНОМ КАЗАХСТАНЕ

В 2018 г. была изучена вирулентность 20 изолятов *P. triticina*, выделенных из шести образцов популяций, собранных в Южном Казахстане с яровых сортов твердой пшеницы. Все изоляты были авирулентными к линиям с генами *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr2c*, *Lr9*, *Lr15*, *Lr16*, *Lr17*, *Lr19*, *Lr24*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr41*, *Lr45*, *Lr47*, *Lr51*, *Lr52*, *Lr53* и вирулентными к *Lr1*, *Lr3a*, *Lr3bg*, *Lr3ka*, *Lr11*, *Lr14a*, *Lr14b*, *Lr18*, *Lr23*, *Lr26*, *Lr30*, *Lr32*, *Lr33*, *Lr34*, *Lr48*, *Lr49*, *Lr64* (табл. 24). Варьирование по вирулентности отмечено на линиях *TcLr20* и *TcLr44*. Частота вирулентности к линиям *TcLr20* и *Lr44* составила 40%.

Казахстанская популяция была представлена двумя фенотипами MCRKG и MCRKH (частота 60% и 40% соответственно). Среднее число аллелей вирулентности – 10,4; индекс Нея –0,02; Шеннона – 0,22; Космана – 0,04. По фенотипическому составу и вирулентности казахстанская популяция *P. triticina* была с российскими северокавказскими популяциями.

Таблица 24 – Частоты вирулентности *Puccinia triticina* на твердой пшенице в регионах РФ и Южном Казахстане (2017-2019 гг.) (%)

Линии с генами <i>Lr</i>	Регионы				
	СК	СВ	У	ЗС	Ю_Каз
<i>2a, 2b, 2c, 9, 15, 16, 19, 24, 28, 29, 41, 45, 47, 51, 52, 53</i>	0	0	0	0	0
<i>17</i>	7	98	100	100	0
<i>20</i>	25	19	36	33	40
<i>23</i>	95	100	57	60	100
<i>26</i>	98	98	61	80	100
<i>44</i>	100	0	0	0	40
<i>1, 3a, 3bg, 3ka, 11, 14a, 14b, 18, 30, 32, 33, 34, 48, 49, 64</i>	100	100	100	100	100
Число изолятов	343	73	28	30	20

СК – Северо-Кавказский, СВ – Средневолжский, У – Уральский, ЗС – Западно-Сибирский, Ю_Каз – Южный Казахстан.

3.6 СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИЙ *PUCCINIA TRITICINA* НА ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЕ ПО ПРИЗНАКУ ВИРУЛЕНТНОСТИ В 2017-2019 ГОДАХ (ОБОБЩЕНИЕ)

В 2017-2019 гг. проанализировали 494 изолята *P. triticina* с твердой пшеницы. Сводные данные по вирулентности региональных популяций представлены в таблице 24. Региональные популяции существенно различались между собой по вирулентности к линиям TcLr17 и TcLr44. В северокавказских образцах популяций частоты вирулентности к TcLr17 были существенно ниже, чем в волжских, уральских и западносибирских, а к линии TcLr44 – выше. Частоты вирулентности к TcLr20, TcLr23 и TcLr26 спонтанно варьировали во всех изученных популяциях. Частоты вирулентности к линиям TcLr23 и TcLr26 во всех популяциях были выше, чем к линии TcLr20.

На многомерной диаграмме, построенной по индексу Нея (Nei_d), оценивающему различия между популяциями по частотам вирулентности, изученные популяции распределились в 2 группы (рис. 5). В первую из них вошли все северокавказские и южно-казахстанские популяции *P. triticina* (Nei_d=0-0.002). Волжские популяции более сходны с уральскими и западносибирскими (0,004-0,009), чем к северокавказскими (0,035-0,04).

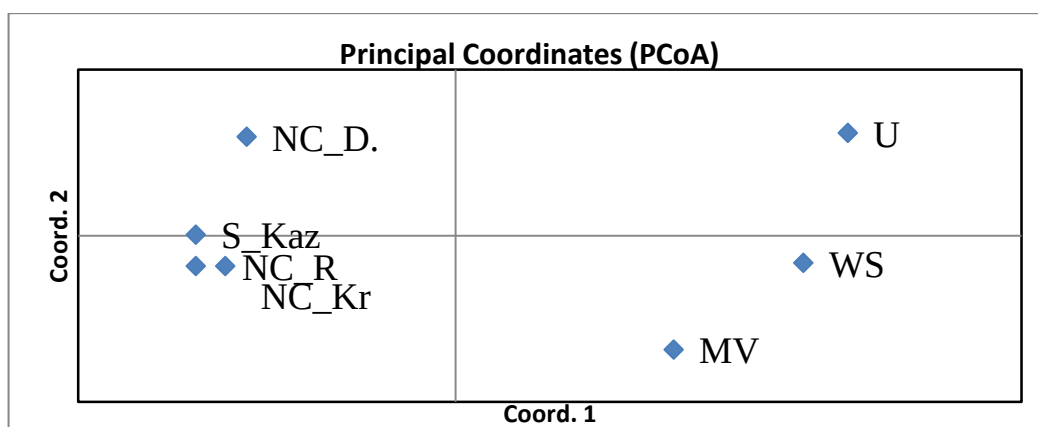


Рисунок 5 – Многомерная диаграмма генетического родства между популяциями *P. triticina* на твердой пшенице по индексу Нея (2017-2019 гг.)

NC_D – Дагестан, NC_Kr – Краснодарский край, NC_R – Ростовская обл., MV – Средневолжский регион, WS – Западно-Сибирский регион, U – Уральский регион.

Всего в изученных популяциях *P. triticina* на твердой пшенице выявлено семь фенотипов вирулентности (табл. 25). Фенотип МСТКГ является общим для всех российских региональных популяций. Частота его ниже в Северо-Кавказском регионе (4%) и выше – в Уральском и Западно-Сибирском (25 и 47% соответственно).

Таблица 25 – Частоты фенотипов *Puccinia triticina* на твердой пшенице в регионах РФ и Южном Казахстане (2017-2019 гг.) (%)

Фенотипы	Авирулентность к линиям Thatcher с генами <i>Lr</i>	Регионы				
		СК	СВ	У	ЗС	Ю_Каз
МВТКГ	2a, 2b, 2c, 9, 15 16, 19, 20, 24, 26	0	0	39	20	0
МСТКГ	2a, 2b, 2c, 9, 15 16, 19,20, 24	4	12	25	47	0
МСТКН	2a, 2b, 2c, 9, 15 16, 19, 24	1	0	36	33	0
МВТКН	2a, 2b, 2c, 9, 15 16, 19, 24, 26	0	7	0	0	0
МСРКГ	2a, 2b, 2c, 9, 15 16, 17, 19,20, 24	71	3	0	0	60
МСРКН	2a, 2b, 2c, 9, 15, 16,17, 19, 24	23	78	0	0	40
МВРКГ	2a, 2b, 2c, 9, 15, 16, 17, 19, 20, 24, 26	0,7	0	0	0	0

СК – Северо-Кавказский, СВ – Средневожский, У – Уральский, ЗС – Западно-Сибирский, Ю_Каз – Южный Казахстан.

Фенотипы МВТКГ и МСТКН приурочены к азиатским регионам (Уральскому и Западно-Сибирскому). Фенотип МСРКГ доминировал в Северо-Кавказском регионе и Южном Казахстане, единично отмечен в Поволжье. Фенотип МСРКН преобладал в Поволжье (78%) и был умеренно представлен в Северо-Кавказском регионе (23%) и в Южном Казахстане (40%).

На многомерной диаграмме, построенной по индексу Роджерса (R), по фенотипическому составу, изученные популяции, распределились так же, как и по индексу Нея (рис. 6). В одну группу объединились все северокавказские и южно-казахстанские популяции *P. triticina* (R=0,06-0,21). Волжские популяции более сходны с уральскими и западносибирскими (0,41-0,62), чем с северокавказскими (0,86-0,97).

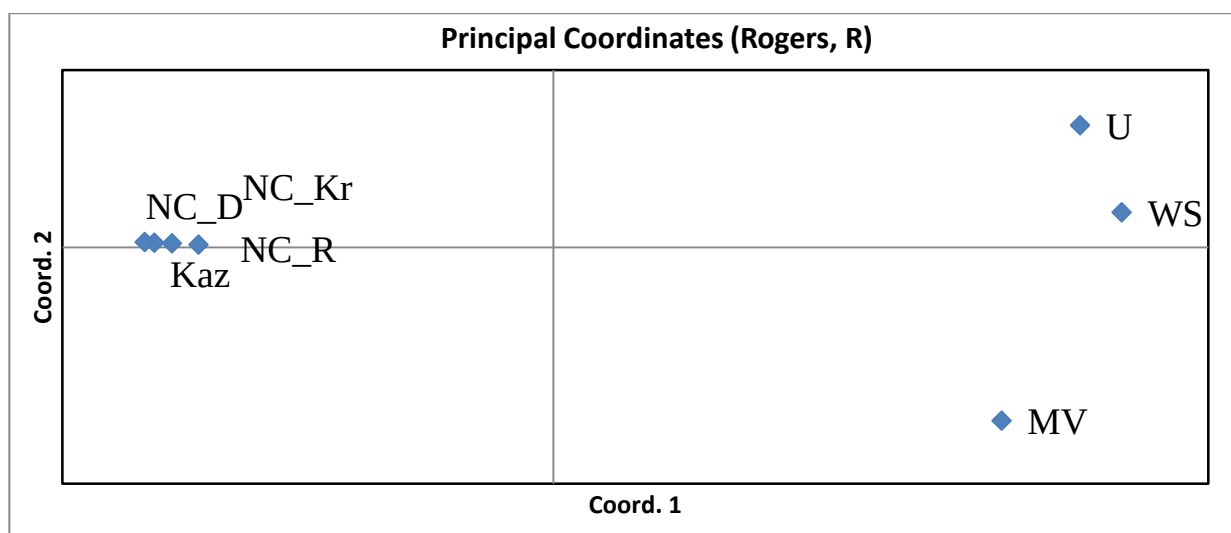


Рисунок 6 – Многомерная диаграмма генетического родства между популяциями *P. triticina* на твердой пшенице по фенотипическому составу (2017-2019 гг.)

Высокую корреляцию результатов наблюдали в структуре распределения популяций по индексам Нея и Роджерса ($r=0.91$) (рис.7).

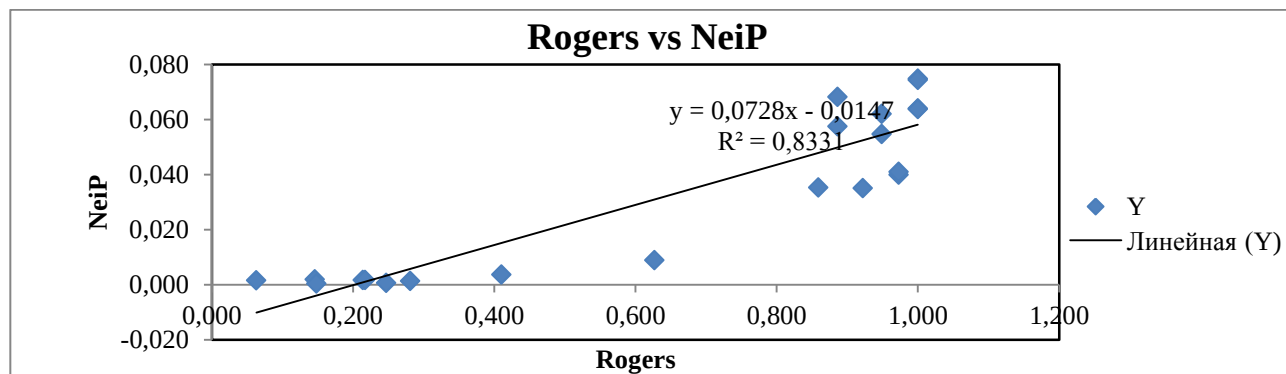


Рисунок 7 – Корреляция результатов анализа структуры популяций на твердой пшенице по индексам Нея и Роджерса.

Аналогичная структура популяций выявлена при использовании индекса KBm (рис. 8), который наиболее информативен в популяционно-генетических исследованиях (Kosman, 1996; Kosman, Leonard, 2007; Kosman, 2014), поскольку комплексно оценивает расстояния (по частотам вирулентности и фенотипическому составу). На многомерной диаграмме в одну группу

объединились все северокавказские изоляты ($KBm=0,005-0,01$), в другую – уральские и западносибирские ($KBm=0,001$). Южноказахстанские изоляты *P. triticina* были близки к северокавказской группе ($KBm=0,01$). Волжские изоляты умеренно отличались от этих групп ($KBm=0,05; 0,03$).

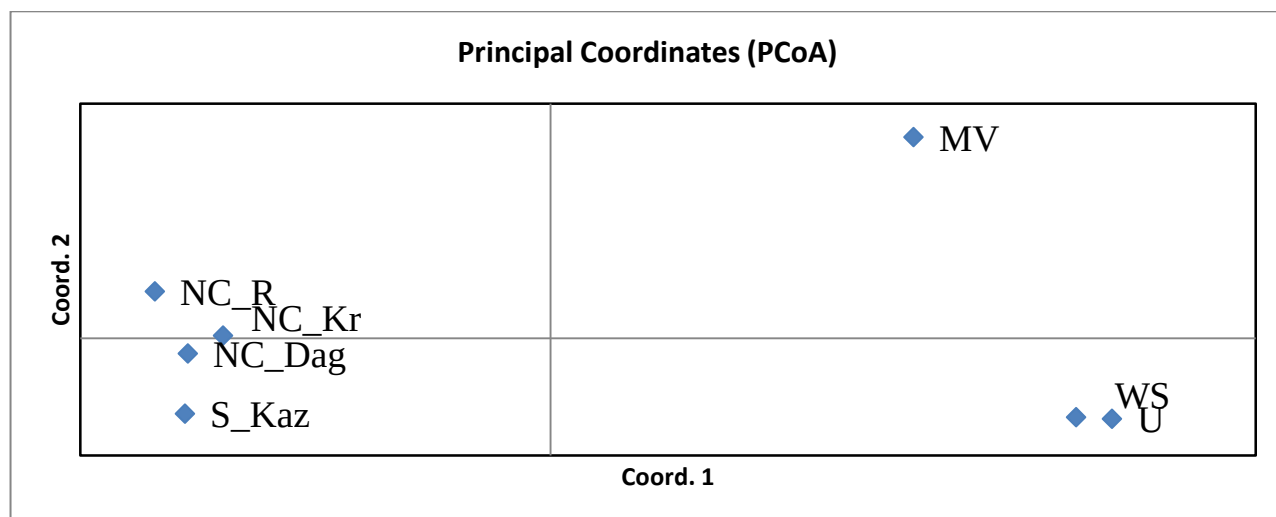
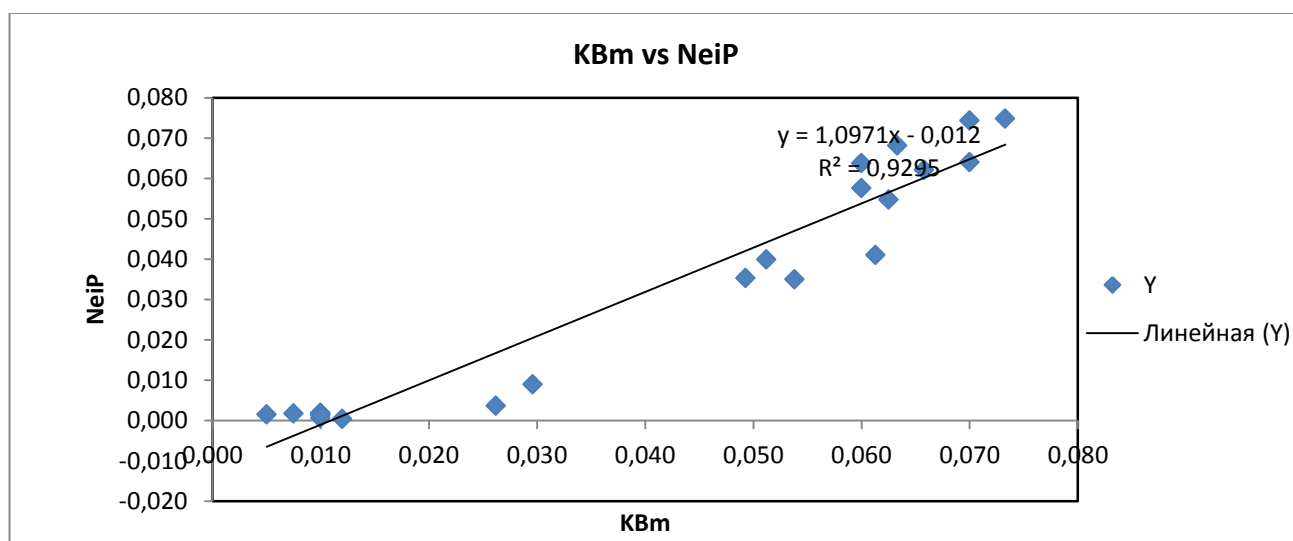
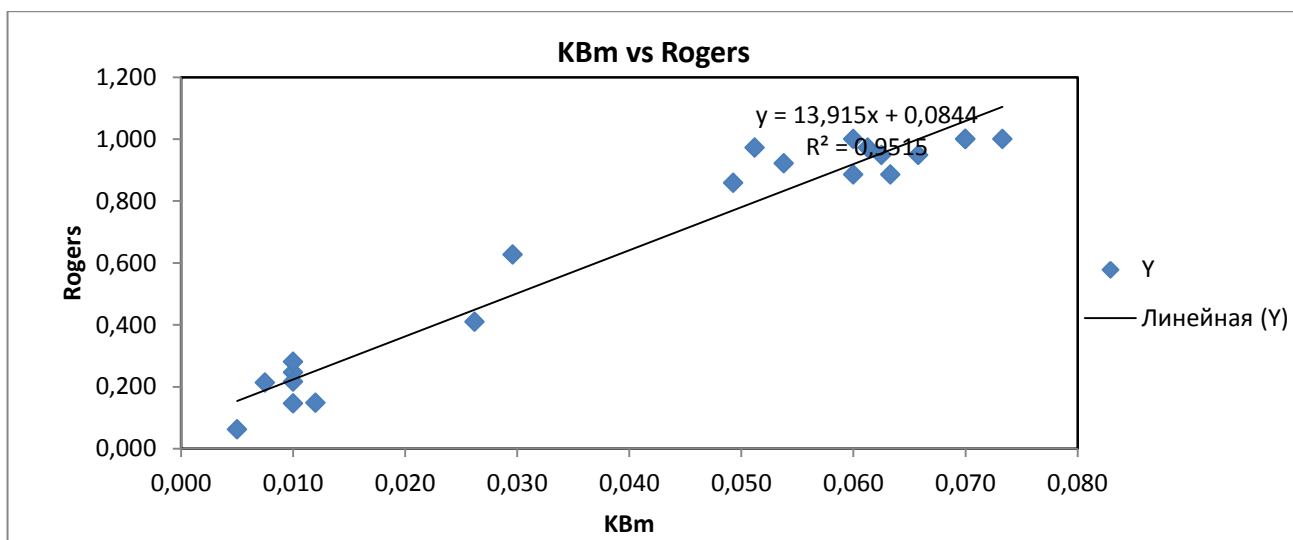


Рисунок 8 – Многомерная диаграмма генетического родства между популяциями *P. triticina* на твердой пшенице по индексу KBm (2017-2019 гг.).

Определена высокая корреляция результатов изучения структуры распределения популяций по индексам Космана и Нея ($r=0.96$) (рис. 9а), и также Космана и Роджерса ($r=0.97$) (рис. 9б).





б

Рисунок 9 – Корреляция результатов анализа структуры популяций на твердой пшенице по индексам а) Космана (KBm) и Нея (N_d), б) Космана (KBm) и Роджерса (R)

Таким образом, географическая структура популяций возбудителя бурой ржавчины на твердой пшенице была сходна с охарактеризованной ранее на мягкой (Гультяева, 2018а). Однако значения индексов генетических расстояний для популяций *P. triticina* на твердой пшенице были существенно ниже, чем для популяций на мягкой пшенице. Это указывает на то, что несмотря на определенную дифференциацию российских популяций на твердой пшенице на группы по географическому происхождению, степень их различий между собой ниже, чем между популяциями гриба на мягкой пшенице.

3.7 СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВИРУЛЕНТНОСТИ И ФЕНОТИПИЧЕСКОГО СОСТАВА *PUCCINIA TRITICINA* НА МЯГКОЙ И ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЕ

В 2017-2018 гг. провели сравнительный анализ вирулентности и фенотипического состава популяций патогена на *T. durum* и *T. aestivum*. Сборы инфекционного материала на двух видах пшеницы были сделаны в идентичных точках. Изучили 89 изолятов из Северо-Кавказского, 36 – Средневолжского, 26 – Уральского, 43 – Западно-Сибирского регионов и 14 изолятов из Южного

Казахстана. Частоты вирулентности популяций *P. triticina* на мягкой пшенице в 2017-2018 г. показаны в таблице 26. Результаты анализа вирулентности популяций на мягкой пшенице 2017-2018 гг., соответствовали ранее полученным в ВИЗР в 2000-2016 гг. (Гультяева и др., 2007, 2011, 2017; Гультяева, 2018а).

Выявлены существенные различия по вирулентности и фенотипическому составу между изолятами с твердой и мягкой пшеницы. Изоляты с мягкой пшеницы имели большее число аллелей вирулентности (12,5-16) по сравнению с изолятами с твердой пшеницы (10-11). Общие фенотипы на твердой и мягкой пшенице не выявлены. Фенотипы вирулентности на мягкой пшенице отличались от фенотипов на твердой пшенице во всех зонах изучения, что указывает на различие в составе популяций патогена на видах *T. durum* и *T. aestivum*. Полученные данные согласуются с представленными в мировой и отечественной литературе сведениями (Дмитриев и др., 1976; Берлянд-Кожевников, 1978; Михайлова, Метревели, 1986; Martinez et al., 2005; Ordoñez, Kolmer, 2007; Goyeau et al., 2012).

Таблица 26 – Частоты вирулентности *Puccinia triticina* на мягкой пшенице (2017-2018 гг.) (%)

Линии с генами <i>Lr</i>	Регионы сбора популяций												
	Северо-Кавказский					Средневожский		Уральский	Западно-Сибирский		Южный Казах- стан		
	Дагестан		Краснодарский край		Ростов- ская обл.	Самарская обл.		Чувашия	Челябин- ская обл.	Алтай		Омская обл.	
	2017	2018	2017	2018	2018	2017	2018	2018	2018	2017	2018	2018	2018
24, 28, 29, 41, 45, 47, 51, 52, 53	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	22	4	100	9	0	100	0	75	73	100	100	100	50
2b	100	39	100	36	0	100	0	75	92	100	100	100	50
2c	100	39	100	36	0	100	20	75	100	100	100	100	50
9	0	0	0	0	0	0	0	0	31	0	54	18	0
15	22	4	100	9	0	100	0	75	53	100	100	100	50
16	100	4	100	14	0	0	0	0	15	0	19	0	0
17	100	83	100	100	90	100	100	100	100	100	100	100	79
19	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0
20	100	22	60	45	10	100	80	0	58	100	100	100	50
23	100	65	100	86	70	100	90	89	11	100	6	14	100
26	100	100	100	100	100	100	60	100	65	100	12	86	100
44	100	100	100	41	93	0	0	0	0	0	19	9	0
1, 3a, 3bg, 3ka, 11,14a, 14b, 18, 30, 32, 33, 34, 48, 49, 64	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Число изолятов	9	23	5	22	30	14	10	12	26	5	16	22	14
Число аллелей вирулентности	12.5					14.2			13.9	16.1		13.3	
Превалирующие фенотипы	MCRKG, MCTKG, THTTR, PHTTH					TCTTR , TCTTQ			PLTTG, TCTTQ, TCTTR	TCTTR, TLTTR, TMTTR, TBTTR			TCTTR MCTKG MLRKH

ГЛАВА 4. ПОЛИМОРФИЗМ ПОПУЛЯЦИЙ *PUCCINIA TRITICINA* НА ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЕ ПО МИКРОСАТЕЛЛИТНЫМ ЛОКУСАМ

В 2005 г. для анализа популяций *P. triticina* были подобраны микросателлитные маркеры. С их использованием охарактеризованы популяции возбудителя на твердой пшенице во многих странах мира. В России такие исследования не проводились. Представляло интерес изучить структуру популяций *P. triticina* на твердой пшенице в России и сравнить полученные результаты со структурой, популяций гриба по признаку вирулентности.

В результате изучения российских популяций *P. triticina* на твердой пшенице в 2017-2019 гг. нами была создана коллекция для проведения микросателлитного анализа. Она включала 113 изолятов из всех изученных регионов. Все фенотипы вирулентности, выявленные при анализе вирулентности, представлены в данной коллекции. Информация о происхождении изолятов и их фенотипах вирулентности представлена в Приложение А, в таблице 1.

В коллекцию вошли 26 дагестанских (NC_D), 15 краснодарских (NC_K), 11 ростовских (NC_R), 19 самарских (MV_S), 4 чувашских (MV_Ch), 14 челябинских (U), 12 омских (WS_O), 4 алтайских (WS_A) и 8 южно-казахстанских изолятов *P. triticina* (Kaz). Согласно индексам генетических дистанций, объединение изолятов в данной коллекции на группы было близким с результатами полного анализа вирулентности, представленного в Главе 3. Пример многомерной диаграммы генетических расстояний по индексу Нея представлен на рисунке 10.

В микросателлитном анализе использовали 11 маркеров. Полиморфизм оценили по 16 аллелям. Показатели генетического разнообразия изолятов *P. triticina* представлены в таблице 27. Число аллелей в изученных локусах варьировало от 1 до 2. Аллельное разнообразие (N_a , N_e) по SSR локусам было низким во всех выборках изолятов. Уровень наблюдаемой гетерозиготности (H_o) был выше уровня ожидаемой (H_e) для большинства коллекций изолятов, что подтверждается отрицательными значениями индекса фиксации (F_{is}). Проверка соответствия распределения генотипов соотношению Харди-Вайнберга показала

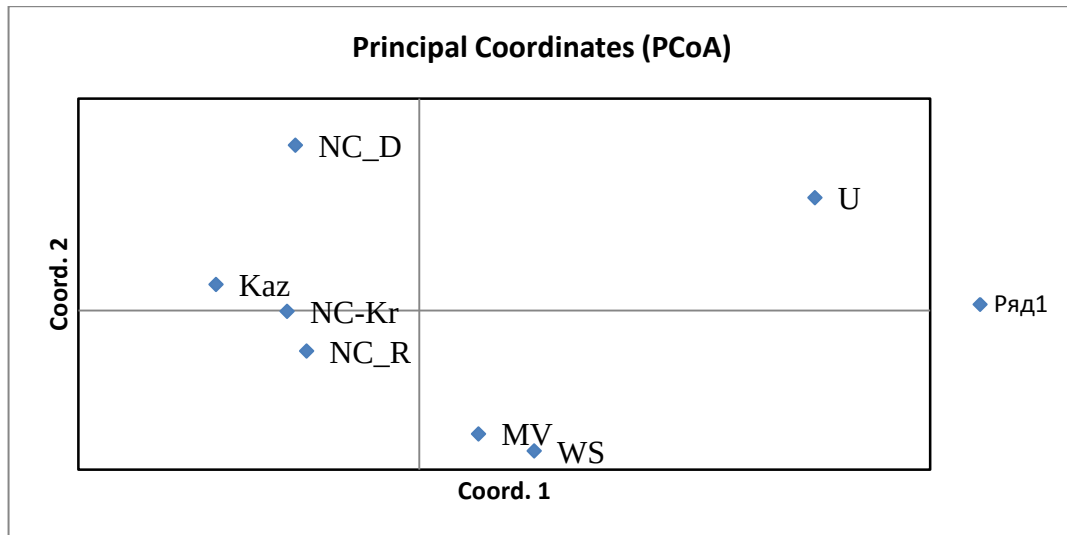


Рисунок 10 – Многомерная диаграмма сходства по признаку вирулентности между изолятами *Puccinia triticina* с твердой пшеницы, отобранными для микросателлитного анализа, (по индексу Нея (N_d))

наличие отклонений наблюдаемых частот генотипов от теоретически ожидаемых для полиморфных локусов.

В микросателлитном анализе идентифицировано 12 генотипов (табл. 27). Наиболее распространенными были генотипы I, II, IV и VI. Генотип II был представлен во всех коллекциях, за исключением омской и казахстанской. Частота его варьировала от 7% (уральская коллекция) до 27% (краснодарская, ростовская). Генотип I превалировал в дагестанской, краснодарской и ростовской популяциях (частота 64-73%), а также отмечен в самарской популяции, где частота его была значительно ниже (10%). Генотип IV был широко представлен в дагестанской, самарской, чувашской, уральской, омской и казахстанской коллекциях *P. triticina*. Генотип III был отмечен в дагестанской и казахстанской коллекциях изолятов, генотип VII – в краснодарской и челябинской, генотип IX – в челябинской, омской и алтайской. Генотип VIII встречался только в уральской коллекции, частота его составила 49%. Генотипы X, XI, XII являлись уникальными и отмечены в дагестанской, самарской и омской коллекциях соответственно.

Таблица 27 – Показатели разнообразия популяций *P. triticina* по микросателлитным локусам

Показатель	Популяции								
	NC_D	NC-Kr	NC_R	MV_S	MV_Ch	U	WS_O	WS_A	Kaz
Число изолятов	26	15	11	19	4	14	12	4	8
Число генотипов	5	3	3	5	5	6	4	2	4
Генотипы и их частоты	I-73% II-15% III-4% IV-4% X-4%	I-67% II-27% VII-7%	I-64% II-27% VI-9%	I-10% II-32% IV-47% VI-5% XI-5%	II-25% IV-75%	II-7% IV-7% IX-29% VI-7% VII-7% VIII-43%	IV-32% IX-25% VI-25% XII-8%	II-25% IX-75%	III-12% IV-25% V-50% VI-12%
Число уникальных генотипов	1	0	0	1	0	1	1	0	1
Среднее число аллелей на SSR локус (N_a)	1,25	1,17	1,17	1,25	1,17	1,25	1,33	1,17	1,33
Число эффективных аллелей (N_e)	1,09	1,08	1,07	1,12	1,15	1,17	1,19	1,12	1,23
Индекс Шеннона (I)	0,08	0,07	0,07	0,11	0,11	0,15	0,16	0,1	0,19
Уровень наблюдаемой гетерозиготности (H_o)	0,08	0,06	0,06	0,1	0,12	0,11	0,11	0,06	0,19
Уровень ожидаемой гетерозиготности (H_E)	0,05	0,05	0,04	0,07	0,08	0,1	0,11	0,07	0,13
Индекс фиксации (F_{is})	-0,04	0,25	-0,26	-0,26	-0,6	-0,03	-0,02	0,2	-0,22

Сходная дифференциация коллекций изолятов получена по всем индексам генетических дистанций (Нея (N_d), F_{st} , Космана (K_{bm})) (рис. 11а, б, 12 а, б). Коэффициент корреляции (r) между результатами изучения структуры, популяций полученных с помощью индексов K_{bm} и F_{st} , составил 0,9; K_{bm} и Nei_d – 0,93; Nei_d и F_{st} – 0,95 (рис.13 а-в).

Согласно всем статистическим индексам с использованием микросателлитных маркеров изученные коллекции изолятов разделились на 2 группы. В одну из них вошли западносибирские и южноуральские изоляты. В другой группе изоляты объединились в две подгруппы. В одну из них вошли все

северокавказские изоляты, в другую средневожские изоляты. Южно-казахстанские умеренно дифференцировались от обеих этих подгрупп.

Согласно тесту Мантеля отмечена умеренная корреляция результатов структуры популяций *P. triticina* по вирулентности и SSR-маркерам ($r=0.58$) (рис. 14).

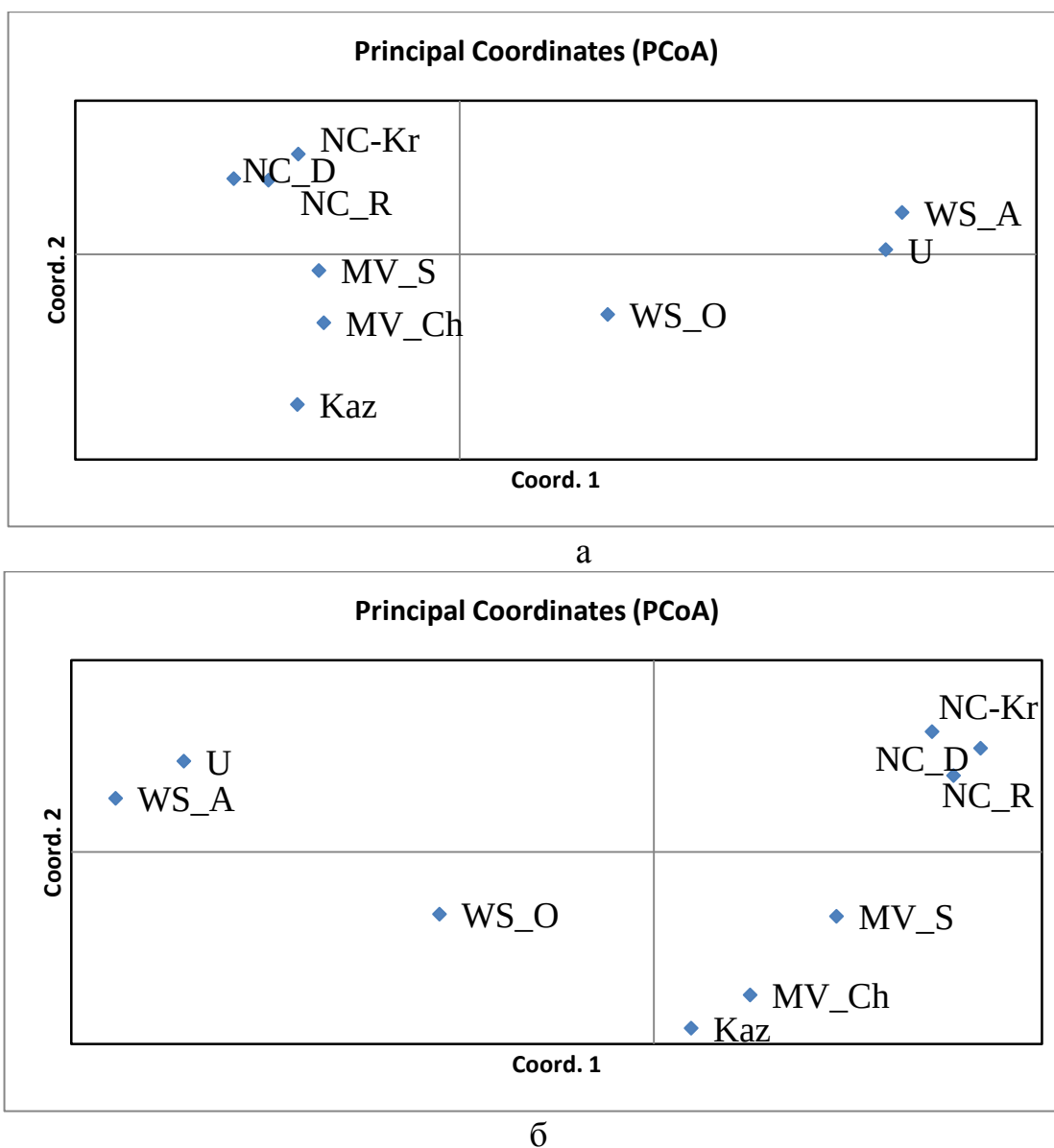


Рисунок 11 – Многомерная диаграмма генетического родства изолятов *Puccinia triticina* по микросателлитным локусам а) по индексу Нея (N_d), б) F_{st}

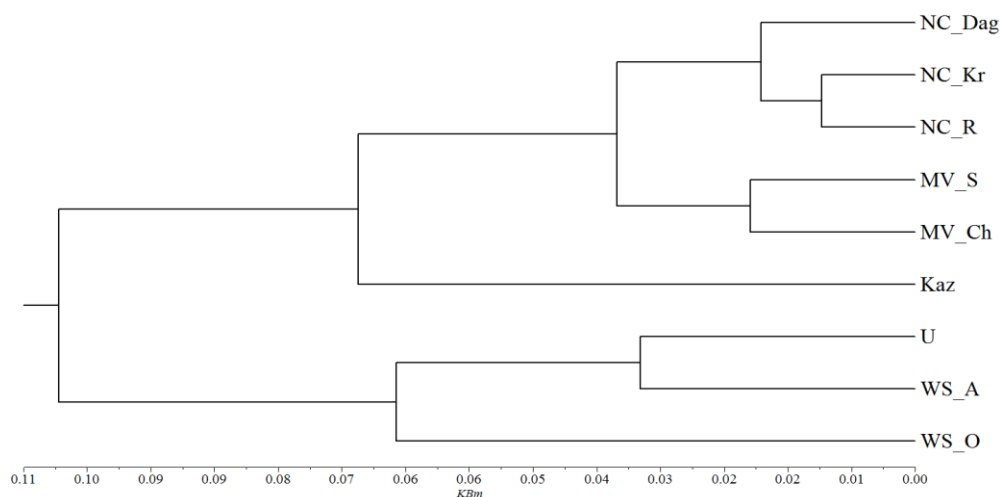


Рисунок 12 - UPGMA-дендрограмма генетического родства изолятов *Puccinia tritici* по микросателлитным маркерам (индекс Космана, Kbm)

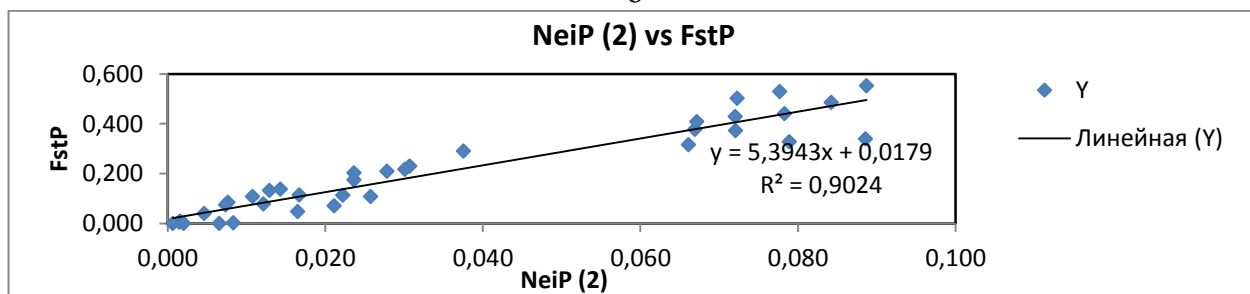
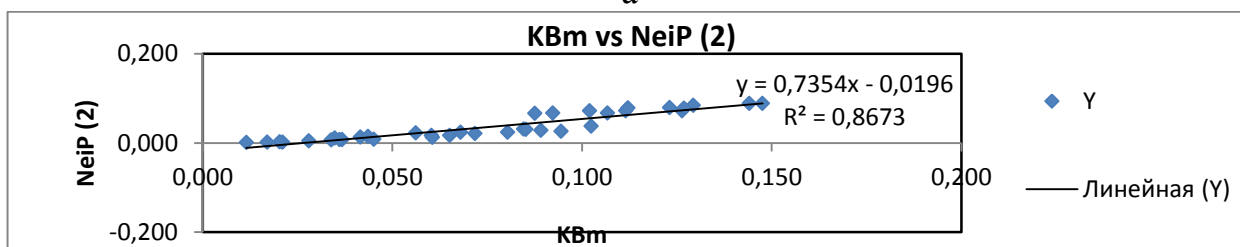
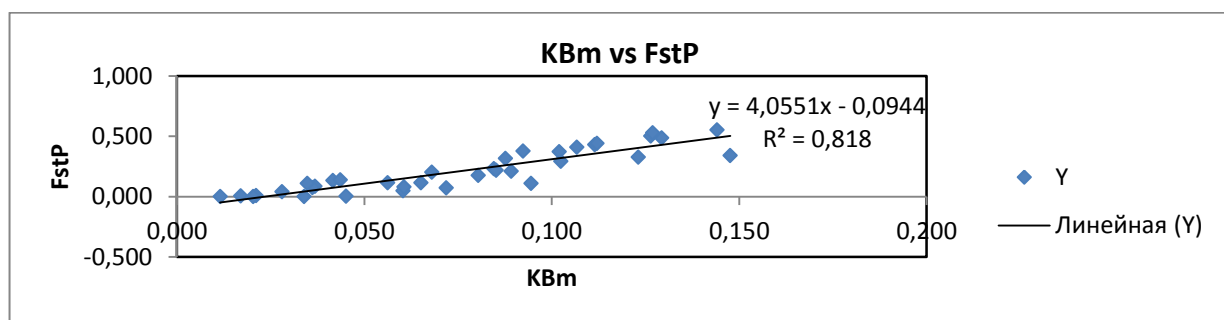


Рисунок 13 – Корреляция результатов структуры популяций на твердой пшенице по микросателлитным маркерам по разным индексам генетических дистанций а) Космана (Kbm) и Fst, б) Kbm и Нея (Nei_d), в) Нея и Fst

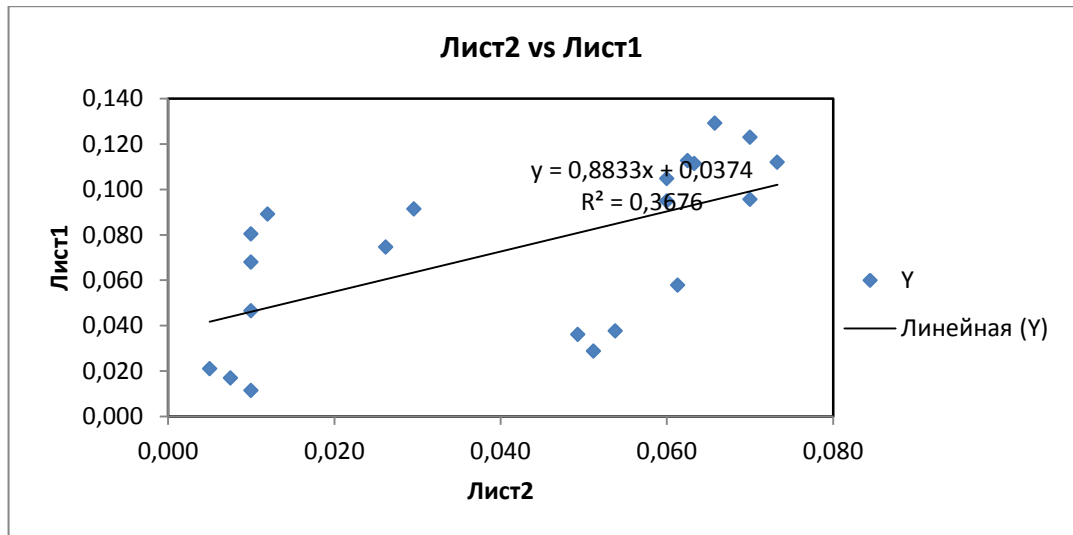


Рисунок 14 – Корреляция результатов анализа структуры популяций на твердой пшенице по вирулентности и микросателлитным маркерам по индексу Космана (Kbm)

С использованием SSR маркеров впервые выявлено разделение российских популяций *P. triticina* на твердой пшенице на европейские и азиатские. Наличие общих SSR генотипов в северокавказских, средневолжских и азиатских популяциях *P. triticina* указывает на генетический поток между ними.

Различия между азиатскими и европейскими популяциями по микросателлитным маркерам и признаку вирулентности могут указывать на разное происхождение инфекции в этих регионах.

ГЛАВА 5. ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ОБРАЗЦОВ ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЫ

Анализ вирулентности выявил существенные различия в составе популяций *P. triticina* на твердой и мягкой пшенице. В связи с этим, следовало оценить устойчивость сортов твердой пшеницы к популяциям патогена, собранных с *T. aestivum* и *T. durum*. В иммунологических исследованиях использовали 21 образец яровой твердой пшеницы, любезно предоставленный из Казахстанско-Сибирской сети улучшения яровой пшеницы (КАСИБ) в 2017 году.

5.1 ИССЛЕДОВАНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ ОБРАЗЦОВ ЯРОВОЙ ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЫ В ФАЗЕ ПРОРОСТКОВ

Для инокуляции образцов твердой пшеницы использовали 19 изолятов *P. triticina*, девять из которых были выделены с твердой пшеницы и десять – с мягкой. Характеристика вирулентности инфекционного материала представлена в таблице 8 (Глава «Материалы и методы»). Все изоляты были авирулентны к линиям Thatcher с генами *Lr24* и *Lr29* и вирулентны к *TcLr1*, *TcLr3a*, *TcLr3bg*, *TcLr3ka*, *TcLr10*, *TcLr14a*, *TcLr14b*, *TcLr18* и *TcLr30*. Наблюдали Различия между изолятами по вирулентности к линиям *TcLr2b*, *TcLr2c*, *TcLr9*, *TcLr15*, *TcLr16*, *TcLr17*, *TcLr19*, *TcLr20*, *TcLr23*, *TcLr26* и *TcLr44* (табл. 8). Изоляты с мягкой пшеницы характеризовались большим числом аллелей вирулентности по сравнению с изолятами с твердой пшеницы.

Большинство образцов твердой пшеницы (67%) было восприимчиво к изолятам с твердой пшеницы. Только два сорта (Kargala 228 и Kargala 238) показали умеренно-устойчивый тип реакции (балл 1, 2). У остальных тип реакции варьировал в зависимости от изолята. Линии Gordieforme 264, Gordieforme 2383, Leukurum 1429-10, Gordieforme 1591-21 (19%) были устойчивы при инокуляции средневожскими изолятами, и восприимчивы ко всем другим использованным.

Линия Leukurum 1506-36 была устойчива к средневолжским, западносибирским и казахстанским изолятам и восприимчива к северокавказским.

Восприимчивость ко всем изолятам с мягкой пшеницы показали только шесть линий (29%): Line 19003, Line 19029, Gordieforme 2383, Line 9-25-016, Gordieforme 69-08-2 и Gordieforme 05-12-7. При этом число устойчивых образцов, было существенно выше (19%), чем при заражении изолятами с твердой пшеницы. Эту группу составляли образцы Kargala 228, Gordieforme 178-05-2 (рис.15), Gordieforme 04-76-5, Gordieforme 1591-21

Образцы Kargala 238, Gordieforme 264, Gordieforme 829, Gordieforme 864, Gordieforme 881, Gordieforme 05-42-12, Leukurum 1429-10, Leukurum 1506-36 и Annushka были устойчивыми к более вирулентным волжским, западносибирским, северо-западным и казахстанским изолятам *P. triticina* с мягкой пшеницы и восприимчивыми к менее вирулентным дагестанским и краснодарским изолятам. Сорт Каргала показал устойчивость ко всем западносибирским изолятам с мягкой пшеницы, а сорт Luch 25 – к волжским и северо-западным. В целом группа образцов с варьирующим типом реакции (R, S) в зависимости от используемых изолятов составляла 52%.

Среди изученных образцов только один сорт (Kargala 228) был устойчив ко всем изолятам с твердой и мягкой пшеницы. Пять линий Line 19003, Line 19029, Gordieforme 69-08-2, Line 9-25-016 и Gordieforme 05-12-7 показали восприимчивый тип реакции ко всем изолятам. Распределение изученных образцов твердой пшеницы по устойчивости к изолятам *P. triticina* с твердой и мягкой пшеницы показано на диаграмме на рисунке 16.

Иммунологический анализ выявил различия по устойчивости яровых образцов твердой пшеницы к изолятам патогена с твердой и мягкой пшеницы. Изоляты с *T. durum* характеризовались более высокой вирулентностью к сортам твердой пшеницы, чем изоляты с мягкой пшеницы.

Проведенный анализ указывал на распецифический тип устойчивости у выделенных образцов твердой пшеницы.

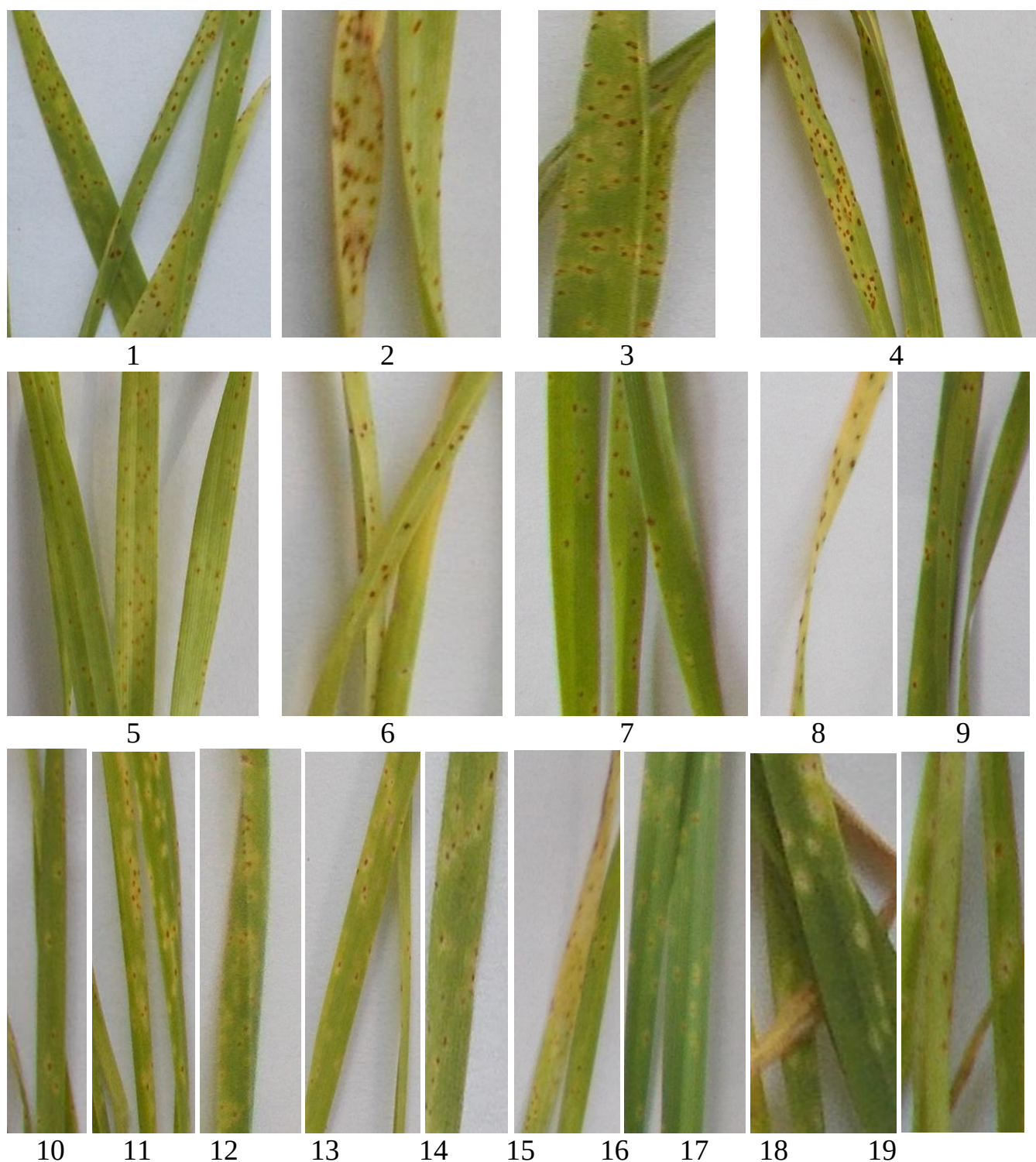


Рисунок 15 – Устойчивость линии твердой пшеницы Gordieforme 178-05-2 при заражении изолятами *Puccinia triticina* с твердой и мягкой пшеницы

1-9 – результаты инокуляции изолятами с твердой пшеницы (изоляты 1 - C_1d, 2 - C_2d, 3 - NC_1d, 4 - NC_3d, 5 - V_1d, 6 - V_2d, 7 - WS_5d, 8 - WS_6d, 9 - K_1d); 10-19 – результаты инокуляции изолятами с мягкой пшеницы: 10 - C_3a, 11 - NC_2a, 12 - NC_4a, 13 - WS_1a, 14 - WS_2a, 15 - WS_3a – 16 - WS_4a, 17 - V_3a, 18 - V_4a.

Расшифровка обозначений изолятов представлена в таблице 8.

Таблица 28 – Характеристика устойчивости образцов твердой пшеницы к возбудителю бурой ржавчины в лабораторных и полевых^а условиях

Образец	Оригинатор	Оценка устойчивости в фазе проростков																			Устойчивость в поле		
		Изоляты <i>P. triticina</i> с твердой пшеницы									Изоляты <i>P. triticina</i> с мягкой пшеницы										Омс- кая обл.	Юж. Казах- стан	Ленинг- радская обл.
		C_1d ⁶	C_2d	NC_1d	NC_3d	V_1d	V_2d	WS_5d	WS_6d	K_1d	C_3a	NC_2a	NC_4a	WS_1a	WS_2a	WS_3a	WS_4a	V_3a	V_4a	NW			
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
Kargala 223	Актюбинская СХОС	3 ⁻	3 ⁻	3 ⁻	3 ⁻	3	3	3	3	3	3	3 ⁻	3 ⁻	1-2	-	2	-	3 ⁻	3	3	10S	5R	0
Kargala 228	Актюбинская СХОС	2	2	2	2	1	1-2	2	2	2	2 ⁺	2 ⁺	2	2	2	2	2+	2	2+	2;	80S	20MR	0
Kargala 238	Актюбинская СХОС	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3 ⁻	1-2	1	2	2	1-2	1-2;	2;	80S	50MS	0
Line 19003	КазНИИЗиР	3 ⁻	3 ⁻	3 ⁻	3 ⁻	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3 ⁻	3	3 ⁻	3	3	3	60S	30MS	0
Line 19029	КазНИИЗиР	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2-3 ⁻	3 ⁻	3	3	60S	30MS	0
Gordieforme 69-08-2	НПЦЗХ им. Бараева	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3 ⁻	3	3	3	3	3	3	2 ⁺ -3	60S	20MR	0
Gordieforme 178-05-2	НПЦЗХ им. Бараева	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	1-2	0-1	2	2 ⁺	10S	0	0
Gordieforme 264	Карабалыкская СХОС	-	3	3	3	2	1-2	3	3	3	3	3	3	1-2	2	1-2	2	2 ⁻	2 ⁺	2 ⁺ 3	5S	40MS	0
Gordieforme 2383	Карабалыкская СХОС	3-4	3	3 ⁻	3	1-2	1-2	3	3	3	3	-	3	2-3	2-3	2-3	2-3	3	2-3	3	10S	30MR	0
Line 9-25-016	Карабалыкская СХОС	3	3	3	3	3	3	3	-	3	3	3	3	2-3	2-3	2-3	2-3	3	2-3	3	50S	0	0
Gordieforme 829	ФАНЦА	-	3	3	2 3 ⁻	3 ⁻	3 ⁻	3	3 ⁻	3 ⁻	3 ⁻	3 ⁻	3	2;	0-1;	1-2	1-2	2	0-1	0;	10S	30MR	0
Gordieforme 864	ФАНЦА	3	3	3	3 ⁻	3 ⁻	3	3 ⁻	-	3 ⁻	3	3	3	-	1-2	-	-	2	-	-	40S	5R	0

Продолжение таблицы 28.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
Gordieforme 881	ФАНЦА	3	3	3 ⁻	3	3 ⁻	3	-	3	3 ⁻	3	-	-	-	2	2	2	0-1	2	2	10S	10MR	0
Gordieforme 04-76-5	Омский АНЦ	3	3	-	2 3 ⁻	3	3	3	3	3	2	2	2	2	1	2	1	1-2	1	2	5MR	30MR	0
Gordieforme 05-12-7	Омский АНЦ	3	-	3	3	3	3	3-	3	3	3 ⁻	3 ⁻	3 ⁻	3 ⁻	3	3 ⁻	3	3	3 ⁻	2 ⁻ 3	60S	0	0
Gordieforme 05-42-12	Омский АНЦ	3	-	3	3	3	3	3	-	3	3	3	3	1-2	-	2	2	2	2	-	5MR	0	0
Leukurum 1429-10	Самарский НИИСХ	3	3	3	3	2-	-	3	3	3	3	3 ⁻	3	2 ⁺	0-1;	2 ⁺	0-1	0-1	1;	0-2	60S	5R	0
Leukurum 1506-36	Самарский НИИСХ	3	3	3	3	1-2	1-2	2	2	2	3	3 ⁻	3	-	0-1;	2 ⁺	1	2 ⁻	1;	0-1	60S	10MR	0
Gordieforme 1591-21	Самарский НИИСХ	3 ⁻	3	3	3	1-2	1-2	3	3	3	2	1-2	2	0-2	0-1	2	0-1	1-2	1	-	5S	0	0
Annushka	НИИСХ Юго-Востока	3	3	3 ⁻	3	3	3 ⁻	3	3	3	3	3	3	2	2	2+	2+	2+	1-2;	-	60S	50MR	0
Luch 25	НИИСХ Юго-Востока	3	3	3	3 ⁻	3	3	3	3	3	3	3	3	3 ⁻	3	3	3	2 ⁺	0-1;	0	60S	0	0

^a устойчивость образцов твердой пшеницы оценивали в рамках программы исследований КАСИБ в Западной Сибири (Омская область, Омский АНЦ, данные к. с.-х. н. В.С. Юсова) и Южном Казахстане в 2017-2018 гг. (НИИ Биологической безопасности, Казахстан, данные к.б.н. А. Рсалиева)

^b характеристика изолятов представлена в табл. 8 в главе «Материалы и методы»,
- не анализировали.

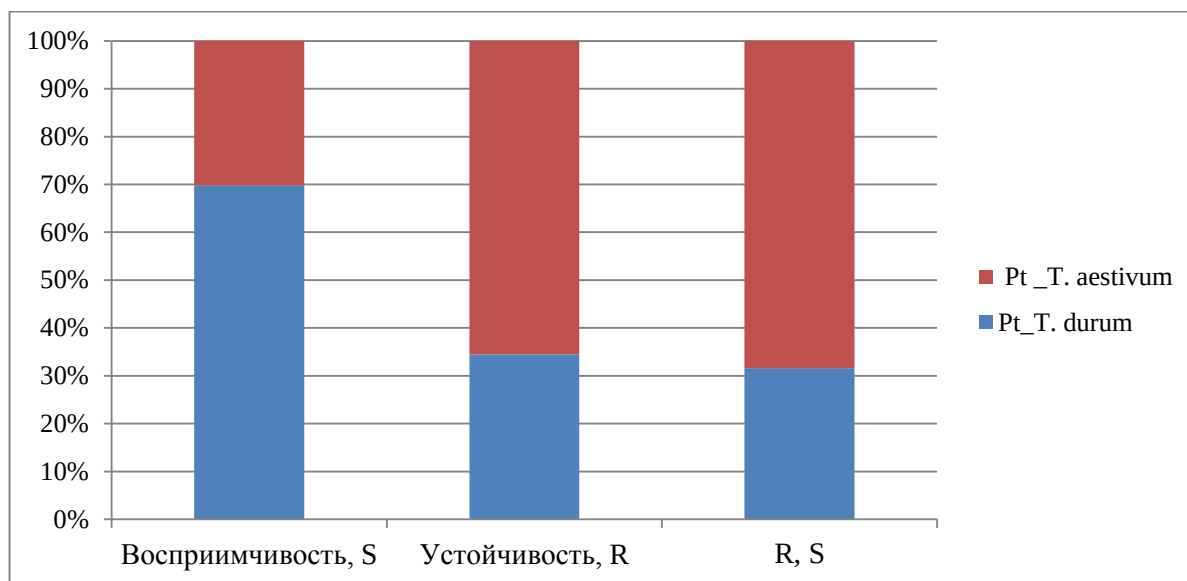


Рисунок 16 – Устойчивость образцов твердой пшеницы к изолятам *Puccinia triticina* с твердой и мягкой пшеницы.

Pt – изоляты *Puccinia triticina* выделенные с *T. aestivum* и *T. durum*.

R – устойчивость – % образцов устойчивых к изолятам с *T. aestivum* и *T. durum*, S – восприимчивость – % восприимчивых образцов, R, S – варьирование типа реакции к изолятам *P. triticina*.

Устойчивость образцов твердой пшеницы оценивали в полевых условиях в рамках программы исследований КАСИБ в Западной Сибири (Омская область, Омский АНЦ, данные к. с.-х. н. В.С. Юсова) и Южном Казахстане в 2017-2018 гг. (НИИ Биологической безопасности, Казахстан, данные к.б.н. А. Рсалиева) (Gulytaeva et al., 2020). Сорт Kargala 223, восприимчивый к возбудителю бурой ржавчины в фазе проростков, в условиях Западной Сибири имел поражение 10%, а в Южном Казахстане 5%. Линии Hordeiforme 178-05-2, Hordeiforme 05-42-12 и Hordeiforme 1591-21 умеренно поразились в Омской области (10%, 5%, 5% соответственно) и были высокоустойчивы (пораженность 0%) в условиях Южного Казахстана. Поражение линий Hordeiforme 264, Hordeiforme 829 и Hordeiforme 04-76-5 было ниже в Западной Сибири (5-10%), чем в Южном Казахстане (30-40%). Линии Hordeiforme 864, Hordeiforme 05-12-7, Leucurum 1429-10 и сорт Luch 25 более устойчивы в Казахстане (0-5%), чем в Западной Сибири (40-60%). Все

другие образцы твердой пшеницы в разной степени поразились бурой ржавчиной. В условиях Ленинградской области, на фоне искусственного заражения, сорта твердой пшеницы, не поражались бурой ржавчиной (0%).

Варьирование по устойчивости изученных образцов яровой твердой пшеницы в полевых условиях Омской и Ленинградской области, а также в Южном Казахстане подтверждают различия между популяциями *P. triticina* в данных регионах и указывают на расоспецифический тип устойчивости у некоторых образцов твердой пшеницы.

5.2 ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ У ОБРАЗЦОВ ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЫ

Результаты фитопатологического теста указывали на отсутствие у изученных сортов *Lr*-генов *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr2c*, *Lr9*, *Lr15*, *Lr16*, *Lr17*, *Lr19*, *Lr20*, *Lr24* и *Lr26*.

С использованием молекулярных маркеров у образцов твердой пшеницы из КАСИБ не выявлено ни одного из идентифицируемых *Lr*-гена (*Lr1*, *Lr3*, *Lr9*, *Lr10*, *Lr19*, *Lr20*, *Lr24*, *Lr34* и *Lr37*). На это указывало отсутствие продуктов амплификации у образцов твердой пшеницы и их наличие в контрольных пробах с идентифицируемыми *Lr*-генами. Примеры электрофореграмм с маркерами генов *Lr9*, *Lr26*, *Lr10*, *Lr24*, *Lr37* и *Lr3a* представлены на рисунке 17 а-е. Для генов *Lr1*, *Lr3*, *Lr9*, *Lr10*, *Lr19*, *Lr20*, *Lr24* результаты молекулярного анализа согласуются с фитопатологическим тестированием.

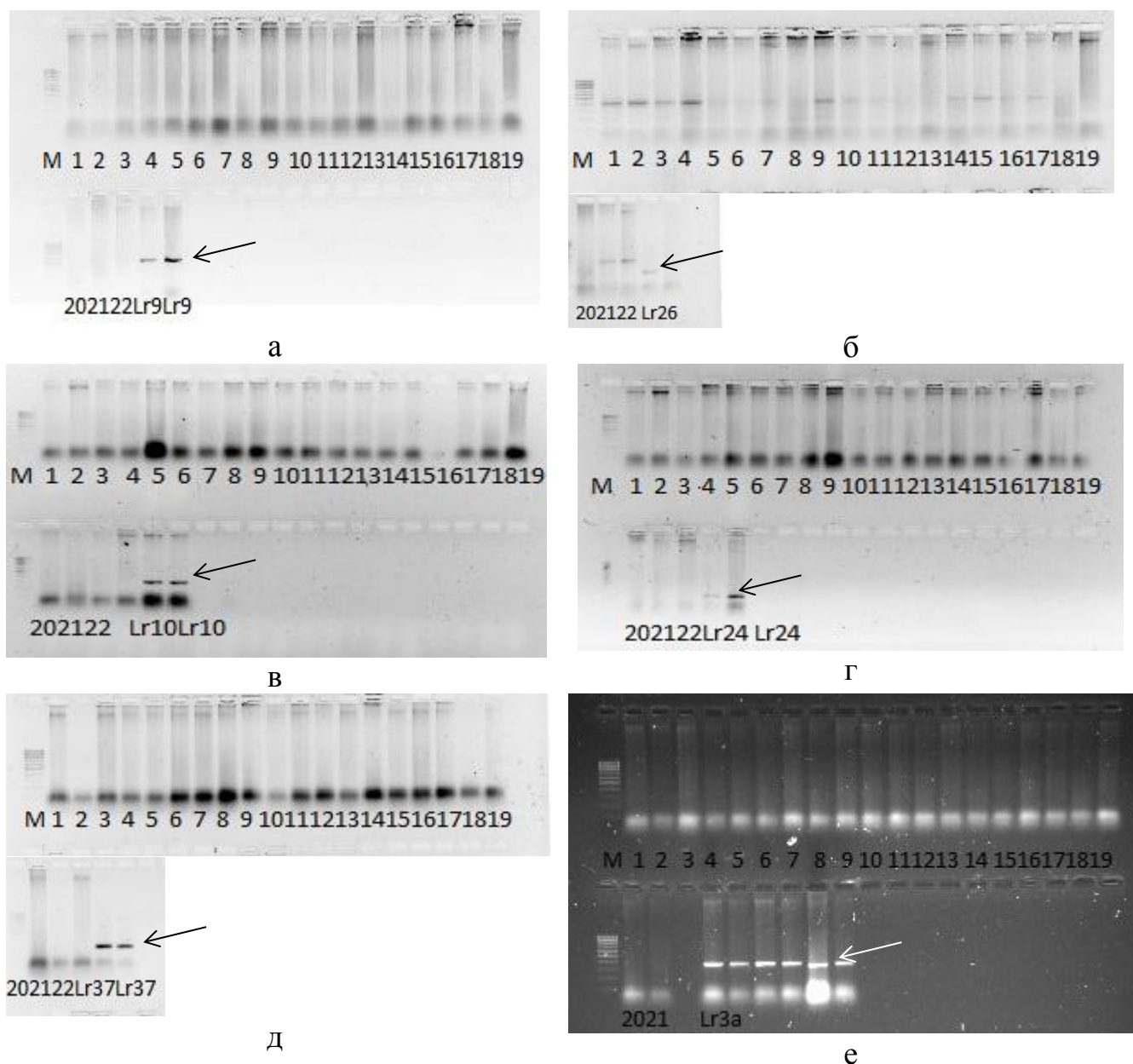


Рисунок 17 – Электрофореграммы ПЦР образцов твердой пшеницы с маркерами а) SCS5 гена *Lr9*, б) CSM9 гена *Lr26*, в) F1.2245/*Lr10*-6/*r2* гена *Lr10*, г) *Sr24=50* гена *Lr24*, д) *Ventriup/LN2* гена *Lr37*, е) *Xmwg798* гена *Lr3a*.

М – маркер молекулярного веса, 1 – Каргала 223; 2 – Каргала 22; 3 – Каргала 238; 4 – Линия 19003; 5 – Линия 19029; 6 – Гордеиформе 69-08-2; 7 – Гордеиформе 178-05-2; 8 – Гордеиформе 2264; 9 – Гордеиформе 2383; 10 – Линия 9-25-016; 11 – Гордеиформе 829; 12 – Гордеиформе 864; 13 – Гордеиформе 881; 14 – Гордеиформе 04-76-5; 15 – Гордеиформе 05-12-7; 16 – Гордеиформе 05-42-12; 17 – Леукурум 1429-10; 18 – Леукурум 1506-36; 19 – Гордеиформе 1591-21; 20 – Аннушка; 21 – Луч 25.

Стрелкой указан продукт амплификации маркера в контроле.

ГЛАВА 6. ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИЙ *PUCCINIA TRITICINA* НА ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЕ В РОССИИ

Впервые в России с привлечением анализа вирулентности и микросателлитных маркеров изучена структура популяций биотрофного патогена *P. triticina* на твердой пшенице. Охарактеризованы вирулентность патогена, расовый состав, внутривидовая структура в географически отдаленных регионах РФ. Уточнены ареалы популяций патогена на твердой пшенице. Полученные сведения дополнены использованием селективно-нейтральных микросателлитных маркеров.

Российские изоляты *P. triticina* с твердой пшеницы в 2017-2019 гг. отличались по вирулентности от изолятов из других стран. Большинство изолятов, описанных на твердой пшенице в Западной Европе, Северной и Южной Америке в 2000-2010 гг., характеризовались меньшим спектром вирулентности. В отличие от российских изолятов, все они были авирулентными к линиям с генами *Lr1*, *Lr3a*, *Lr3ka*, *Lr3bg*, *Lr11*, *Lr17* и *Lr26* (Ordenez, Kolmer, 2007; Goyeau et al., 2012). Согласно фенотипической аббревиатуре, большинство из них относилось к группе BBB- (авирулентность к линиям с генами *Lr1*, *Lr2a*, *Lr2c*, *Lr3a*, *Lr9*, *Lr16*, *Lr24*, *Lr26*, *Lr3ka*, *Lr11*, *Lr17*, *Lr30*). Наряду с фенотипами группы BBB-, в Италии (Mantovani et al., 2010) на твердой пшенице выявлены фенотипы DCB-, FGB-, FVB, вирулентные к линиям с генами *Lr2c*, *Lr3a*, *Lr3bg*, *Lr16* и *Lr20*, а в Израиле (Kosman et al., 2014) MG-, MH-, вирулентные к линиям с генами *Lr1*, *Lr3a*, *Lr3ka*, *Lr16* и *Lr30*.

Изменения по вирулентности в сравнении с 1970-1980 гг. отмечены в современной дербентской популяции *P. triticina* на твердой пшенице. В середине 1970 годов все изоляты с *T. durum* характеризовались авирулентностью к линиям с генами *Lr1*, *Lr2a*, *Lr2c*, *Lr3a* и *Lr17* (Дмитриев и др., 1976). В 1980 годах авирулентность к TcLr1 и TcLr2a сохранялась, но при этом возросли частоты вирулентности к линиям TcLr3a, TcLr3ka, TcLr10, TcLr14, TcLr16, TcLr17 и

TcLr18 (Михайлова, Метревели, 1976; Михайлова, 2006). В проведенном нами анализе все дербентские изоляты характеризовались авирулентностью к *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr2c*, *Lr16* и *Lr17* и вирулентностью к *Lr1*. Для мягкой пшеницы повышение вирулентности к *Lr1* в российских популяциях отмечается с начала 2010 годов (Гультияева, 2018a). Не исключено, что эта тенденция распространилась и на изоляты с твердой пшеницы. Однако это может являться только предположением, потому что в период до 2017 г. патоген на твердой пшенице в Дагестане не изучался.

Алтайские и омские изоляты *P. triticina* на твердой пшенице отличались от проанализированных нами в 2014 г. (Гультияева, Ахметова, Шайдаюк, Аристова, 2016) североказахстанских из Акмолинской области. Североказахстанские изоляты, также как и азиатские российские, были авирулентны к линиям TcLr2a, TcLr2b, TcLr2c, TcLr15, TcLr16 и дополнительно к TcLr1, TcLr18 и TcLr26 (Гультияева и др., 2016). Объяснением этому могло быть использование разных методических подходов при проведении анализа вирулентности. В данной работе использовали живые проростки, выращенные в почве, а при изучении североказахстанских популяций – метод отрезков листьев, метаболизм которых поддерживался в растворе бензимидазола (Михайлова и др., 1998).

Для определения ареалов популяций *P. triticina* на твердой пшенице необходимо было исследовать изоляты гриба, собранные на обширной территории. В нашей работе образцы популяций на твердой пшенице изучены в трех точках Северо-Кавказского региона (Дагестан, Краснодарский край, Ростовская область), где преимущественно рекомендована для выращивания озимая твердая пшеница. Образцы популяций яровой пшеницы были собраны в Среднем Поволжье, на Южном Урале и Западной Сибири. Кроме того, изучен материал бурой ржавчины из Южного Казахстана, собранный также с твердой пшеницы. Таким образом, в исследованиях была обеспечена широкая представленность инфекционного материала *P. triticina* (урединиообразцов), полученных из основных ареалов возделывания озимой и яровой твердой пшеницы.

Популяции возбудителя бурой ржавчины на твердой пшенице характеризовались слабым внутрипопуляционным разнообразием по вирулентности и микросателлитным локусам, в сравнении с популяциями на мягкой пшенице. Значения индексов, характеризующих генетические расстояния между популяциями на твердой пшенице, также были существенно ниже, чем для популяций патогена на мягкой пшенице. Это согласуется с большинством популяционно-генетических исследований, проведенных в других странах (Ordoñez, Kolmer, 2007 а,б; Mantovani et al., 2010; Goyeau et al., 2012; Kosman et al., 2014).

В нашей работе существенное влияние растения-хозяина (сортов твердой пшеницы) на изменчивость популяций *P. triticina* не выявлено. Варьирование по вирулентности в образцах, выделенных с разных сортов твердой пшеницы, наблюдали только по генам: *Lr20*, *Lr23* и *Lr26*. Целенаправленная селекция на устойчивость к бурой ржавчине ни в России, ни за рубежом, практически не проводилась. В большинстве экологических регионов селекционеры нацелены на разработку сортов с устойчивой урожайностью и широкой адаптацией к разнообразным условиям среды (Мальчиков и др., 2018). Основными направлениями селекции сортов озимой пшеницы являлось повышение зимостойкости, продуктивности и достижение оптимальной высоты растений (Щипак и др., 2012). Большинство сортов озимой твердой пшеницы созданы путем скрещивания яровых сортов твердой пшеницы с озимыми мягкими.

Селекция яровой твердой пшеницы в России прошла несколько этапов. В настоящее время состояние сортового разнообразия в районировании по регионам отчетливо демонстрирует превалирование сортов, созданных региональными селекционными учреждениями. (Мальчиков и др., 2018). Например, исходный материал для селекции яровой твердой пшеницы в Среднем Поволжье формировался на основе местных сортов-популяций; сортов, полученных отбором из них; образцов твердой пшеницы разнообразного эколого-географического происхождения; скрещивания с представителями других видов из рода *Triticum* (*T. aestivum*, *T. dicoccum* Schueb., *T. carthlicum* Nevs., *T. timopheevi* Zhuk., *T.*

polonicum L.). Объединяющей чертой всех созданных в Безенчуке сортов твердой пшеницы является их общее генеалогическое древо. Эта нить общей родословной тянется от местных сортов-популяций твердой и мягкой пшеницы (Мальчиков, Мясникова, 2012). В Алтайском селекцентре для гибридизации широко использовался сорт яровой твердой пшеницы Харьковская 46. Подавляющее число сортов отечественной селекции прямо или косвенно имеют в своей родословной этот сорт (Розова и др., 2018).

И.Г. Одинцова с соавторами (1982, 1989) показали, что, несмотря на более высокую степень устойчивости твердой пшеницы к бурой ржавчине, по сравнению с мягкой, разнообразие сортов твердой пшеницы по *Lr*-генам, ниже. Л.Я. Плотникова с соавторами (2012) показали, что многие сорта твердой пшеницы западносибирской селекции обладают высокой устойчивостью к бурой ржавчине. С использованием тетраплоидных форм, сочетающих хромосомы *T. aestivum* и *T. durum*, установлено, что сорта твердой пшеницы защищены 2–3 доминантными или рецессивными расоспецифическими генами и комплексом факторов неспецифической устойчивости, подавляющих развитие болезни. Такое сочетание обеспечивает высокую стабильную устойчивость твердой пшеницы к бурой ржавчине.

В данных исследованиях впервые с использованием признака вирулентности и микросателлитных маркеров подтверждена дифференциация популяций *P. triticina* на твердой пшенице на 2 группы – азиатские и европейские. В них выявлены SSR генотипы, общие для обеих групп популяций, а также характерные только для европейской или азиатской. Наличие общих SSR - генотипов в северокавказских, волжских, уральских и западносибирских популяциях указывает возможность генного потока между ними.

Полученные сведения по структуре популяций на твердой пшенице согласуются с результатами изучения структуры популяций патогена на *T. aestivum* (Гуляева, 2018a). При этом наши данные расходятся с литературными. По мнению J. Kolmer с соавторами (2019), низкое разнообразие изолятов на твердой пшенице по вирулентности, микросателлитным и SNP маркерам в

Южной и Северной Америке, Западной Европе и Средиземноморье указывает на их общее происхождение, за исключением изолятов из Эфиопии, которые отличались от всех изолятов из других стран. В исследованиях J. Kolmer с соавторами (2015, 2018) на мягкой пшенице в России также не выявлено разделение на географические группы. При этом большинством российских исследователей (Михайлова, Васильев, 1985; Тырышкин, Михайлова, 1989; Сорокина и др., 1990; Михайлова, 1995а, б; Павлова, Михайлова, 1987; Коваленко и др., 2012; Гультияева, 2018) доказали существование нескольких географических групп популяций возбудителя бурой ржавчины на мягкой пшенице.

Поражение сортов твердой пшеницы изолятами *P. triticina* с мягкой указывает на возможность перезаражения данных видов. Более позднее поражение твердой пшеницы, по сравнению с мягкой, указывает на то, что, скорее всего, изоляты с *T. aestivum* могут являться источником инфекции для *T. durum*.

При этом в условиях Северо-кавказского региона, благоприятных для сохранения и поддержания высокого разнообразия патогена в естественных ценозах, возможно заражение твердой пшеницы и от дикорастущих злаков. Л.А. Михайлова (2006) и В.М. Берлянд-Кожевников с соавторами (1978) показали, что бурая ржавчина в окрестностях ДООС ВИР успешно сохраняется в течение сезона на широко произрастающих там дикорастущих злаках. При анализе клонов *P. triticina* с пырея показано их высокое разнообразие по вирулентности. Были найдены генотипы, авирулентные ко всем *TcLr*-линиям; маловирулентные (P1, P2, P17; P3, P17), сходные по вирулентности с обитающими на твердой пшенице, и генотипы с различными сочетаниями рецессивных и доминантных аллелей, которые широко встречаются у изолятов на мягкой пшенице. Дикорастущие злаки могут представлять первичный источник инфекции для твердой пшеницы в этом регионе. О лимитировании перезаражении твердой пшеницы изолятами с мягкой указывает отсутствие или низкая частота общих для обоих видов фенотипов *P. triticina*. Например, фенотипы авирулентные к линии *TcLr17, Lr2a, Lr2b Lr2c* в северокавказской популяции на мягкой пшенице очень редки, что подтверждается в данных исследованиях (табл. 26), и также других авторов (Kolmer et al., 2015;

Гультияева, 2018a). В исследованиях J. Kolmer с соавторами (2015), в Северо-Кавказском регионе (Краснодарский край) на мягкой пшенице были выявлены фенотипы, авирулентные к *Lr17* (TBR-), но при этом все они были вирулентными к *TcLr2a* и *TcLr2c*, что не характерно для изолятов на твердой пшенице.

Предполагается, что занос бурой ржавчины в Западную Сибирь и Среднее Поволжье может происходить воздушными потоками из южных регионов (Рейтер, 1984; Михайлова, 2006; Сюков, 1917). На твердой пшенице бурая ржавчина в Западной Сибири и на Урале проявляется позднее, чем на мягкой, и, как правило, ее развитие значительно меньше, чем на мягкой пшенице. В Западной Сибири, на Урале и в Поволжье на мягкой пшенице (табл. 26) доминируют фенотипы с широким спектром вирулентности, нетипичные для твердой пшеницы. Наряду с ними встречаются и менее вирулентные изоляты, характеризующиеся разным сочетанием аллелей вирулентности/авирулентности, в том числе и фенотипы, аналогичные идентифицированным на мягкой пшенице (Гультияева, 2018a). Это предполагает сходное происхождение инфекции на твердой и мягкой пшенице в этом регионе.

В наших исследованиях оба типа маркеров (вирулентность и SSR) показали высокую результативность для оценки генетической вариабельности *P. triticina*. Результаты изучения структуры популяций *P. triticina* с использованием двух типов маркеров коррелировали умеренно. По микросателлитным маркерам средневолжские популяции *P. triticina* на твердой пшенице были ближе к северокавказским, чем при анализе вирулентности. Высокое число общих SSR генотипов в волжских и северокавказских образцах популяций указывает на высокий генетический дрейф между ними.

Анализ яровых образцов твердой пшеницы выявил различия по устойчивости к инфекционному материалу, полученному с твердой и мягкой пшеницы. Изоляты с *T. durum* характеризовались более высокой вирулентностью к сортам твердой пшеницы, чем изоляты с мягкой пшеницы. Выявленные различия по устойчивости изученных сортов яровой твердой пшеницы в полевых условиях Омской и Ленинградской областей, а также в Южном Казахстане

подтверждают наличие нескольких географических популяций на данной территории.

Проведенные популяционные исследования *P. triticina*, развивающейся на твердой пшенице, привнесли новые знания в популяционную биологию возбудителя бурой ржавчины в России.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате мониторинга вирулентности популяций возбудителя бурой ржавчины пшеницы на твердой пшенице в Северо-Кавказском, Средневолжском, Уральском и Западно-Сибирском регионах РФ в 2017-2019 гг. охарактеризованы частоты вирулентности, фенотипический состав и структура распределения фенотипов гриба. Всего изучено 494 монопустульных изолята *P. triticina*. Региональные популяции существенно различаются между собой по вирулентности к линиям TcLr17 и TcLr44. В северокавказских популяциях частоты вирулентности к TcLr17 существенно ниже, чем в волжских, уральских и западносибирских, а к линии TcLr44 – выше.

В изученной коллекции *P. triticina* определено семь фенотипов вирулентности. Фенотип MCTKG отмечен во всех российских популяциях, фенотипы MBTKG и MCTKH – только в азиатской (уральская, западносибирская), фенотипы MCRKG и MCRKH – в европейской (северокавказская, волжская) и южно-казахстанской. Фенотип MBRKG уникален для дагестанской популяции, а фенотип MBTKH – для волжской.

По признаку вирулентности изученные популяции *P. triticina* объединены нами в две группы. В одну из них входят все северокавказские (дагестанские, краснодарские, ростовские) и южно-казахстанские популяции. Другую группу составляют уральские и западносибирские популяции. Волжская популяция умеренно отличаются от обеих этих групп.

Охарактеризован полиморфизм микросателлитных локусов у изолятов *P. triticina* на твердой пшенице из географически отдаленных регионов. Идентифицировано 12 SSR генотипов, среди которых выявлены общие для всех регионов, характерные только для определенных регионов и уникальные, отмеченные лишь в одной из популяций. В микросателлитном анализе изученные коллекции изолятов *P. triticina* распределены в две кластерные группы. В одну из них вошли западносибирские и уральские изоляты, в другую – северокавказские, волжские и южно-казахстанские. Наличие высокого числа общих генотипов

внутри европейской и внутри азиатской популяций указывает на интенсивный генный поток на данных территориях.

Охарактеризована устойчивость у 21 перспективного образца яровой твердой пшеницы при инокуляции изолятами с твердой и мягкой пшеницы. Изоляты с *T. durum* характеризовались широким спектром вирулентности к сортам твердой пшеницы, в сравнении с изолятами с мягкой пшеницы. При инокуляции изолятами с твердой пшеницы 2 образца (10%) показали устойчивый тип реакции, 14 образцов (67%) характеризовались восприимчивостью; у пяти образцов (24%) тип реакции варьировал в зависимости от изолята гриба. При инокуляции изолятами с мягкой пшеницы 4 образца (19%) были устойчивы, 6 (29%) восприимчивы, а у 11 (52%) образцов тип реакции варьировал. С использованием молекулярных маркеров показано, что изученные образцы твердой пшеницы не содержат идентифицируемые гены устойчивости *Lr1*, *Lr3*, *Lr9*, *Lr10*, *Lr19*, *Lr20*, *Lr24*, *Lr26*, *Lr34* и *Lr37*. Результаты фитопатологического теста указывают на отсутствие у этих образцов генов *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr2c*, *Lr15*, *Lr16* и *Lr17*.

Популяции возбудителя бурой ржавчины на твердой пшенице существенно отличаются от популяций гриба на мягкой пшенице. Они характеризуются более низким внутривидовым разнообразием по признаку вирулентности и микросателлитным локусам. Число аллелей вирулентности у изолятов *P. triticina* на *T. durum* было существенно меньше (10-11), чем у изолятов гриба на *T. aestivum* (12,5-16). Выявлены различия в фенотипическом составе патогена на твердой и мягкой пшенице.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Альдеров, А.А., Магомедов Л.Г. Внутривидовое разнообразие и генетический контроль устойчивости пшеницы твердой к бурой ржавчине. Исходный материал зерновых, овощных культур и проблемы селекции в условиях Южного Дагестана / А.А. Альдеров, Л.Г. Магомедов // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – Санкт-Петербург: ВИР, 2000. – №158. – С. 37-40.

Андреев, Л.Н. Ржавчина пшеницы. Цитология и физиология / Л. Н. Андреев, Ю. М. Плотникова [под редакцией М. В. Горленко]. Москва: Наука, Гл. ботан. сад, 1989. – 301с.

Афанасенко, О.С. Проблемы рационального использования генетических ресурсов устойчивости растений к болезням / О.С. Афанасенко // Технологии создания и использования сортов и гибридов с групповой и комплексной устойчивостью к вредным организмам в защите растений: Санкт-Петербург: РАСХН, Отделение защиты растений, ГНУ ВНИИЗР, 2010. – С. 3-10.

Афонин, А.Н. Агроэкологический атлас России и сопредельных государств: сельскохозяйственные растения, их вредители, болезни и сорняки / А.Н. Афонин, С.Л. Гринн, Н.И. Дзюбенко, А.Н. Фролов. – 2008. Режим доступа: (<http://www.agroatlas.ru>).

Бажанов, А.М. О возделывании пшеницы с описанием пород, разводимых в России / А.М. Бажанов – Москва, 1856. – 213с.

Беляева, М.В. Иммуитет, адаптивность и качество сортов яровой твёрдой пшеницы в Среднем Поволжье / М.В. Беляева, П.Н. Мальчиков, М.Г. Мясникова Е.Н. Шаболкина // Известия Самарской Государственной Сельскохозяйственной Академии. – 2018. – №4. – С. 27-36.

Берлянд–Кожевников, В.М. Устойчивость пшеницы к бурой ржавчине (Генетическое разнообразие популяций гриба и растения–хозяина) / В.М. Берлянд–Кожевников, А.П. Дмитриев, Е.Б. Будашкина и др. – Новосибирск: Наука, 1978. – 442 с.

Браилко, А.А. Особенности формирования урожайности и качества зерна озимой твердой пшеницы в различных почвенно-климатических зонах Ставропольского края. Автореф. канд. с.-х. наук. Ставрополь, 2004. – 23 с.

Брызгалова, В.А. О новом промежуточном хозяине бурой ржавчины пшеницы *Puccinia triticina* Eriks. / В.А. Брызгалова // Сборник по защите растений Восточной Сибири. – Иркутск, 1937. – №5. – С. 75-88.

Вавилов, Н.И. Азия – источник видов / Н.И. Вавилов // Растительные ресурсы. – 1966. – Т. 2(4). – С. 577-580.

Вавилов, Н.И. Мировые ресурсы хлебных злаков. Пшеница / Н.И. Вавилов. – М.-Л., 1964. – 123 с.

Вавилов, Н.И. Учение о происхождении культурных растений после Дарвина: (доклад на Дарв.сессии АН СССР. 28 нояб. 1939 г.) / Н.И. Вавилов // Советская наука. – 1940. – № 2. – С. 55-75.

Васильева, Л.Н. О биологии ржавчинных грибов зерновых культур в Приморском крае / Л.Н. Васильева // Сообщения Дальневосточного филиала Академии наук СССР. – Владивосток, 1951. – С. 15-19.

Васильчук, Н.С. Итоги селекции яровой твердой пшеницы на высокое качество зерна в Саратове / Н.С. Васильчук, С.Н. Гапонов, Л.В. Ерёменко, Т.М. Паршикова, В.М. Попова, Н.М. Цетва, Г.И. Шутарева // Достижения науки и техники АПК. – 2010. –Т. 5. – С. 22-23.

Гастгаузен, А. Исследования внутренних отношений народной жизни в особенности сельских учреждений / А. Гастгаузен - М., 1870. – 490с.

Голубев, П.А. Алтай: Историко-статистический сборник / П.А. Голубев – Томск, 1890.

Гончаров, С.В. Перспективы развития российского рынка твердой пшеницы / С.В. Гончаров, М.Ю. Курашов // Вестник Воронежского государственного аграрного университета. – 2018. – Т. 2 (57). – С. 66-75.

Гульятеева, Е.И. Структура популяций *Puccinia triticina* по вирулентности и ДНК-маркерам в Северо-Западном регионе России в 2007 / Е.И.Гульятеева, Е.

Косман, А.П.Дмитриев, О.А.Баранова // Микология и фитопатология. – 2011. – Т. 45(1). – С. 70-81.

Гультьева, Е.И. Структура Российских популяций гриба *Puccinia triticina* Erikss. / Е.И. Гультьева, Е.Л. Шайдаюк, И.А. Казарцев, М.К. Аристова // Вестник защиты растений. – 2015. – Т. 3(85). – С.5-10.

Гультьева, Е.И. Вирулентность и структура популяций *Puccinia triticina* в Российской Федерации в 2007 году / Е.И. Гультьева, О.А. Баранова, А.П. Дмитриев // Вестник защиты растений. – 2009. – №4. – С.333-338.

Гультьева, Е.И. Генетическая дифференциация *Puccinia triticina* Erikss. на территории России / Е.И. Гультьева, М.К. Аристова, Е.Л. Шайдаюк, Н.В. Мироненко, И.А. Казарцев, А. Ахметова, Е. Косман // Генетика. – 2017. – Т. 53(9). – С. 1053-1060.

Гультьева, Е.И. Генетическая структура популяций *Puccinia triticina* в России и ее изменчивость под влиянием растения-хозяина.: дис... д-ра биол. наук: 03.02.12 / Гультьева Елена Ивановна – Санкт-Петербург, 2018а. – 312с.

Гультьева, Е.И. Молекулярно–генетические подходы в изучении популяций возбудителя бурой ржавчины пшеницы / Е.И. Гультьева, И.А. Казарцев // Вестник защиты растений. – 2018б. – Т. 2(96). – С. 5-12.

Гультьева, Е.И. Структура популяций *Puccinia triticina* Erikss. на мягкой и твердой пшенице / Е.И. Гультьева, А.К. Ахметова, Е.Л. Шайдаюк, М.К. Аристова // Земледелие и селекция сельскохозяйственных растений на современном этапе. Сборник докладов международной научно-практической конференции, посвященной 60-летию НПЦ зернового хозяйства им. А.И. Бараева. – Научно-производственный центр зернового хозяйства им. А.И.Бараева, 2016 – С. 309-313.

Гущин, И.В. Твердая пшеница в Саратовской области / И.В. Гущин, А.С. Инякина. – Саратов, 1963. – 52 с.

Дмитриев, А.П. Исследование расового и генотипического состава дербентской популяции *Puccinia recondita* Rob. ex Desm. в 1972–1973 гг. / А.П. Дмитриев, Л.А. Михайлова, Л.Ф. Шеломова., А.И.Деревянкин // Микология и фитопатология. – 1976. – Т. 10(4). – С. 61-64.

Дорофеев, В.Ф. Пшеницы мира / В.Ф. Дорофеев, Р.А. Удачин, Л.В. Семенова и др. – Ленинград: Колос, 1987. – 487 с.

Дорохов, Д.Б. Быстрая и экономичная технология RAPD анализа растительных геномов / Д.Б. Дорохов, Э. Клоке // Генетика. – 1997. – Т. 33(4) – С. 443-450.

Дружин, А.Е. Генофонд *Triticum durum* Desf. как источник расширения биоразнообразия *Triticum aestivum* L. / А.Е. Дружин, С.Н. Сибикеев, В.А. Крупнов (<http://www.reforef.ru/outozuc/Генофонд+triticum+durum+desf.+Как+источник+расширения+биоразнообразия+triticum+aestivum+Lc/main.html>)

Дьяков, Ю.Т. Инвазии фитопатогенных грибов / Ю.Т. Дьяков, М.М. Левитин. – Москва: Ленанд, 2018. – 260 с.

Евдокимов, М.Г. Селекция яровой твердой пшеницы в Сибирском Прииртышье: моногр. / М.Г. Евдокимов. – Омск: Сфера, 2006а. – 219 с.

Евдокимов, М.Г. Селекция яровой твердой пшеницы в условиях юга Западной Сибири: автореф. дис... докт. с/х, наук / М.Г. Евдокимов – Омск, 2006б. – 42 с.

Коваленко, Е.Д. Современное состояние популяций возбудителя бурой ржавчины и создание генбанка источников и доноров устойчивости пшеницы / Е.Д. Коваленко, А.И. Жемчужина, М.И. Киселева и др. // Иммуногенетическая защита сельскохозяйственных культур от болезней: теория и практика. Материалы Международной научно–практической конференции, посвященной 125 –летию со дня рождения Н.И. Вавилова. Большие Вяземы Московской обл. 17–20 июля 2012 г. – 2012 – С.69-80.

Крупнов, В.А. Увеличение генетического разнообразия саратовских пшениц / В.А. Крупнов, С.А. Воронина, С.Н. Сибикеев, В.А. Елесин // Сборник научных трудов «Проблемы и пути преодоления засухи в Поволжье». – Саратов: НИИСХ Юго-Востока, 2000. – Ч.1. – С. 249-274.

Левитин, М.М. Генетика фитопатогенных грибов / М.М. Левитин, И.В. Федорова. – Л.: Наука, 1972. – 215 с.

Левитин, М.М. Популяционные исследования фитопатогенных грибов / М.М. Левитин, О.С. Афанасенко, Т.Ю. Гагкаева, Ф.Б. Ганнибал, Е.И. Гультяева, Н.В. Мироненко // Популяционные исследования грибов – возбудителей болезней зерновых культур // Вестник защиты растений. – 2019. – Т. 4(102). – С. 5-16.

Левитин, М.М. Структура и ареалы популяций фитопатогенных грибов / М.М. Левитин, Н.В. Мироненко // Биосфера. – 2016. – Т.2(8). – С. 216-225.

Лекомцева, С.Н. Грибы рода *Russinia*. Таксономический анализ. Новое в систематике и номенклатуре грибов / С.Н. Лекомцева, [под ред. Ю.Т. Дьякова, Ю.В. Сергеева]. – Санкт-Петербург, 2007. – С. 402-418.

Магомедов, Л.Г. Внутривидовое разнообразие и наследование устойчивости твердой пшеницы (*Triticum durum* Desf.) к бурой ржавчине.: Автореф. дис. канд. биол. наук – Санкт-Петербург, 1997. – 18с.

Мальчиков, П.Н. Величина и стабильность урожайности современного селекционного материала яровой твердой пшеницы (*Triticum durum* Desf.) из России и Казахстана / П.Н. Мальчиков, М.А. Розова, А.И. Моргунов М.Г. Мясникова, Ю.И. Зеленский // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2018. – Т. 22(8). – С. 939-950.

Мальчиков, П.Н. Относительное развитие признаков продуктивности твердой пшеницы в процессе селекции / П.Н. Мальчиков, М.Г. Мясникова// Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2012. – Т. 16(4-2). – С. 987-997.

Мальчиков, П.Н. Селекция яровой твердой пшеницы в Среднем Поволжье.: Автореф. дис. д-ра с/х. наук_06.01.05 / Мальчиков Петр Николаевич – Безенчук, 2009. – 56 с.

Мироненко, Н.В. Современные представления о генетической структуре популяций фитопатогенных грибов. Технологии создания и использования сортов и гибридов с групповой и комплексной устойчивостью к вредным организмам в защите растений / Н.В. Мироненко // Технологии создания и использования сортов и гибридов с групповой и комплексной устойчивостью к вредным организмам в защите растений. – Санкт-Петербург: ВИЗР, 2010. – С. 11-26.

Михайлова, Л.А. Методы исследований структуры популяции возбудителя бурой ржавчины пшеницы / Л.А. Михайлова, Е.И. Гульяева, Н.В. Мироненко // Сборник методических рекомендаций по защите растений. – Санкт-Петербург: ВИЗР, 1998. – С. 105–126.

Михайлова, Л.А. Ареалы популяций возбудителя листовой ржавчины пшеницы / Л.А. Михайлова, С.В. Васильев // Микология и фитопатология. – 1985. – Т.19(2). – С. 158-163.

Михайлова, Л.А. Генетика взаимоотношений возбудителя бурой ржавчины и пшеницы / Л.А. Михайлова [Под ред. акад. РАСХН М.М. Левитина]. – Санкт-Петербург: ВИЗР, 2006. – 80 с.

Михайлова, Л.А. Закономерности изменчивости популяций возбудителя бурой ржавчины и генетический контроль устойчивости пшеницы к болезни: дис... д-ра биол. наук в форме научного доклада: 06.01.11 / Михайлова Людмила Александровна. – Санкт-Петербург, 1996. – 63с.

Михайлова, Л.А. Структура популяции *Puccinia recondita* Rob.ex Desm.f.sp.*tritici* на разных видах пшеницы // Л.А. Михайлова, Т.Г. Метревели // Микология и фитопатология. – 1986. – Т. 20(2). – С. 138-142.

Михайлова, Л.А. Структура популяций возбудителя бурой ржавчины пшеницы. III Оценка степени сходства популяций на территории СНГ в 1988–1990 гг. / Л.А.Михайлова // Микология и фитопатология. – 1995а. – Т 29(3). – С.45-51.

Михайлова, Л.А. Структура популяций возбудителя бурой ржавчины пшеницы. IV Оценка степени сходства популяций на территории СНГ в 1991–1993 гг. / Л.А.Михайлова // Микология и фитопатология. – 1995б. – Вып. 29(4). – С.48-52.

Михайлова, Л.А. Устойчивость пшеницы к бурой ржавчине / Л.А. Михайлова // Идентифицированный генофонд растений и селекция. – Санкт-Петербург: ВИР, 2005. – С. 513-526.

Одинцова, И.Г. Идентификация генов устойчивости пшеницы к ржавчинным болезням. Методические указания / И.Г. Одинцова, Л.А. Смирнова, Л.А. Михайлова и др. – Л., 1989. – 36 с.

Одинцова, И.Г. О сложности локуса Lr23, контролирующего устойчивость пшеницы к бурой ржавчине/ И.Г. Одинцова, Х.О. Пеуша // Труды по прикл. ботанике, генетике и селекции. – 1984. – Т.85(3). – С.13–19.

Одинцова, И.Г. Устойчивые к бурой ржавчине образцы яровой пшеницы с предварительной генетической характеристикой. Каталог мировой коллекции ВИР / И.Г. Одинцова, В.И. Кривченко, О.Г. Григорьева и др. – Л., 1982. – Вып.62. – 78 с.

Павлова, Т.В., Михайлова Л. А. Роль миграции спор возбудителя бурой ржавчины пшеницы *Puccinia recondita* Rob. ex Desm. f. sp. *tritici* в формировании популяций и возникновении эпифитотий / Т.В. Павлова, Л.А. Михайлова // Микология и фитопатология. – 1997.– Т. 31. – № 5. – С. 60–66.

Плотникова, Л.Я. Устойчивость к бурой ржавчине селекционного материала мягкой пшеницы, полученного на основе межвидовых гибридов *Triticum aestivum* х *T. durum* / Л.Я. Плотникова, Р.И. Рутц, Н.А. Жарков, М.Г. Евдокимов, Л.А. Городецкая // Омский научный вестник. – 2012. – Т. 1(108). – С. 171-174.

Рейтер, Б.Г. Фитопатологические и иммунологические основы снижения вредоносности бурой ржавчины пшеницы в Западной Сибири: автореф... д-ра биол. наук: 06.01.11 / Рейтер Бруно Генрихович – Киев, 1984. – 37 с.

Розова, М.А. Актуальные направления селекционных исследований по яровой твердой пшенице на Алтае / М.А.Розова, А.И. Зиборов, Е.Е. Егiazарян, Н.В. Барышева // Сборник научных работ «Актуальные вопросы АПК Сибири: итоги и перспективы». – Барнаул, 2015. – С. 136-149.

Розова, М.А. Результаты использования материала КаСиб-ЯТП в селекции яровой твердой пшеницы на Алтае / М.А. Розова, А.И. Зиборов // Материалы совещания. Сибирский научно-исследовательский институт растениеводства и селекции. – Новосибирск, 2015. – С. 57-64.

Розова, М.А. Селекционное улучшение яровой твердой пшеницы (*Triticum durum* Desf.) по урожайности и качеству зерна в условиях Алтайского края / М.А. Розова, А.И. Зиборов, Е.Е. Егiazарян // Известия Самарского научного центра Российской Академии Наук. – 2018. – Т. 20(2-3(82)). – С. 470-477.

Романенко, А.А. Выращивание пшеницы твердой в Краснодарском крае: биология, морфология, элементы технологии / А.А. Романенко, Л.А. Беспалова, А.А. Мудрова, А.С. Яновский, И. Н. Кудряшов, И.Б. Аблова, А.В. Новиков, Р.А. Агаев, А.Н. Боровик, Г.И. Букреева, М.И. Домченко, А.М. Васильева. –Краснодар: ЭДВИ, 2018. – 92 с.

Романенко, А.А. Ресурсосберегающая технология возделывания озимой твердой пшеницы / Л.А. Романенко, Л.А. Беспаловой, А.А. Мудрова, И.Н. Кудряшов, И.Б. Аблова, Н.И. Терпугова, Н.Е. Самофалова, А.С. Попов, Е.Л. Ревякин. – Москва: ФГБНУ «Росинформагротех», 2013. – 52 с.

Русаков, Д.Ф. К вопросу о перезимовке ржавчины хлебов / Д.Ф. Русаков // Материалы по микологии и фитопатологии. – 1926. – №. 1. – С. 17-30.

Савицкая, В.А. Твердая пшеница в Сибири / В.А. Савицкая, С.С. Сеницин, А.И. Широков. – Москва: Агропромиздат, 1987. – 144с.

Самофалова, Н.Е. Твердая (тургидная) озимая пшеница в Ростовской области (сортовой состав, технология возделывания, семеноводство) / Н.Е. Самофалова, А.С. Попов, Н.П. Иличкина, О.А. Дубинина, Т.Г. Дерова. –Ростов-на-Дону: ЗАО Книга, 2012. – 60 с.

Сорокина, Г.К. Использование эффективных *Lr*-генов в селекции пшеницы на устойчивость к бурой ржавчине / Г.К. Сорокина, Л.А. Смирнова, В.К. Лангавая // Методические рекомендации. ВНИИФ, ВАСХНИЛ. – М., 1990. – 31 с.

Степанов, К.М. Перезимовка бурой ржавчины (*Puccinia triticina* Er.) / К.М. Степанов // Вестник защиты растений. – 1940. – №5. – С. 109-124.

Сюков, В.В. Листовая бурая ржавчина: фитопатологические и селекционно–генетические аспекты / В.В. Сюков. – Казань, 2016. – 145 с.

Тырышкин, Л.Г., Михайлова Л.А. Структура популяций возбудителя бурой ржавчины пшеницы. 1. Подбор сортов–дифференциаторов / Л.Г. Тырышкин, Л.А. Михайлова // Микология и фитопатология. – 1989. Т.23(4). – С. 393-402.

Филатенко, А.А. Культурные растения для устойчивого сельского хозяйства в XXI веке. Поиск, интродукция, создание, сохранение и использование в селекции / А.А. Филатенко, Н.Т. Шайдуко // Пшеница твердая в коллекции ВИР. – 2008. – Т. 3. – С. 285-297.

Фляксбергер, К.А. Пшеницы / К.А. Фляксбергер. – М.; Л.: ОГИЗ, 1935. – 261 с.

Хлгатын, А.Х. Результаты изучения устойчивости некоторых твердых пшениц к грибным заболеваниям / А.Х. Хлгатын, Н.Г. Мурадян // Технология возделывания, селекция и семеноводство полевых культур. Сборник научных трудов АрмНИИ Земледелия. Эгмиадзин. – 1980 – №15. – С. 78-84.

Худокормова, Ж.Н. Ретроспективный анализ развития бурой ржавчины (*Puccinia triticina* Rob. ex Desm. f. sp. *tritici* Erikss.) и устойчивость пшеницы и тритикале к патогену.: Автореф. дис. канд. с.-х. наук. – Краснодар, 2008. – 25 с.

Чебаков, Н.П. Основные разновидности пшениц мягкой (*Triticum aestivum* L.) и твердой (*Triticum durum* Desf.) / Н.П Чебаков // Plant Varieties Studying and Protection. – 2008. – Т. 2(8). – С. 61-70.

Чепец, С.А. Перспективы выращивания твердой пшеницы в Ростовской области / С.А. Чепец, Е.С. Чепец // Успехи современной науки. – 2015. – №3. – С. 42-45.

Щербик, А.А. Оценка сортообразцов пшеницы из национальной американской коллекции зерновых культур (NSGC) на устойчивость к бурой ржавчине в условиях инфекционного питомника ВНИИ фитопатологии / А.А. Щербик // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Агрономия и животноводство. – М., 2011. – С. 34-39.

Щипак, Г.В. Селекция озимой твердой пшеницы на повышение адаптивного потенциала и урожайность / Г.В. Щипак, Р.А. Недоступов, В.Г. Щипак // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2012. – Т. 16(2). – С. 455-463.

Юсов, В.С. Характеристика устойчивости образцов пшеницы твердой из питомников КАСИБ к возбудителю бурой ржавчины в условиях Западной Сибири / В.С. Юсов, М.Г. Евдокимов, Л.В. Мешкова, М.Н. Кирьякова, Д.А. Глушаков // Труды Кубанского Государственного Аграрного Университета. – 2018. – Т. 72. – С. 386-390.

Aguilar-Rincon, V.H. Genes of leaf rust resistance in a synthetic hexaploid wheat / V.H. Aguilar-Rincon, R.P. Singh, F. Castillo-Gonzalez and, J. Huerta-Espino // Rev. Fitotec. Mex. – 2001. – V. 24. – P. 161-169.

Anikster, Y. *Puccinia recondita* causing leaf rust on cultivated wheats, wild wheats, and rye / Y. Anikster, W.R. Bushnell, T. Eilam, J. Manisterski, A.P. Roelfs // Can. J. Bot. – 1997. – V. 75. – P. 2082-2096.

Aoun, M. Mapping of Novel leaf rust and stem rust resistance genes in the portuguese durum wheat landrace PI 192051 / M. Aoun, J.A. Kolmer, M.N. Rouse, E.M. Elias, M. Breiland, W.D. Bulbula, S. Chao, M. Acevedo // G3: Genes, Genomes, Genetics. – 2019. – V. 9(8). – P. 2535-2547.

Bhardwaj, S.C. A new variant 5R9-7 of *Puccinia triticina* on emmer and durum wheats in India / S.C. Bhardwaj, S. K. Jain, M. Prashar, S. Kumar // Australasian Plant Pathology. – 2013. – V. 42. – P. 525-531.

Błaszczyk, L. Validity of Selected DNA Markers for Breeding Leaf Rust Resistant Wheat / L. Błaszczyk, I. Kramer, F. Ordon, J. Chełkowski, M. Tyrka, G. Vida & I. Karsai // Cereal Research Communications. – 2008. – V. 36. – P. 201-213.

Bozzini, A. “Origin, distribution, and production of durum wheat in the world,” in *Durum: Chemistry and Technology* / A. Bozzini [Eds G. Fabriani G. Dans, Lintas C., editors]. – St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists, 1988 – P. 1-16.

Casulii, F. *Thalictrum flavum* L. as an alternate host of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* in Southern Italy / F. Casulii, A. Siniscalco // In: Proceedings of the 7th Congress of the Mediterranean Phytopathology Union. – Granada: Spain, 1987. – P. 91-93.

Cherukuri, D.P. Identification of a molecular marker linked to an Agropyron elongatum-derived gene Lr19 for leaf rust resistance in wheat / D.P. Cherukuri, S.K.

Gupta, A. Charpe, S. Koul, K.V. Prabhu, R.B. Singh, Q.M.R. Haq, S.V.S. Chauhan, W.E. Weber // *Plant Breed.* – 2003. – V. 122. – P. 204-208.

D'Oliveira, B. Aecial stage of *Puccinia recondita* on *Ranunculaceae* and *Boraginaceae* in Portugal /B. D'Oliveira, D.J. Samborski // In: Proc. First European Brown Rust Conference, Cereal Rusts Conferences, Cambridge (UK), Plant Breeding Institute, Cambridge, 1964. – 133-150 p.

Del Olmo, A.I. Physiologic specialization of *Puccinia triticina* in Andalusia (Spain) in 2004 and 2005 / A.I. del Olmo, J.C. Sillero, D. Rubiales // *Options Méditerranéennes, Series A.* – 2008. – V. 81. – P. 169-171.

Duan, X. Isolation of 12 microsatellite loci, using an enrichment protocol, in the phytopathogenic fungus *Puccinia triticina* / X. Duan, J. Enjalbert, D. Vautrin, C. Solignac, T. Giraud // *Mol. Ecol. Notes.* – 2013. – V. 3. – P.65-67.

Dubcovsky, J. Molecular characterization of two *Triticum speltoides* interstitial translocations carrying leaf rust and greenbug resistance genes / J. Dubcovsky, A.J. Lukaszewski, M. Echaide, E.F. Antonelli, D.R. Porter // *Crop Sci.* – 1998. – V. 38. – P. 1655-1660.

Dyck, P.L. The transfer of leaf rust resistance from *Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides* to hexaploid wheat / Dyck, P.L. // *Can. J. Plant Sci.* – 1994. – V. 74. – P. 671-673.

Edwards, K. A simple and rapid method for the preparation of plant genomic DNA for PCR analysis / K. Edwards, C. Johnstone, C. Thompson // *Nucl. Acid. Res.* – 1991. – V.19. – P. 1349.

Enjalbert, J. Isolation of twelve microsatellite loci, using an enrichment protocol, in the phytopathogenic fungus *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici* / J.X. Enjalbert, T. Duan, D. Giraud, C. Vautrin, De Vallavieille-Pope, M. Solignac // *Molecular Ecology Notes.* – 2002– V. 2(4). – P. 563-565.

Evanno, G. Detecting the number of clusters of individuals using the software Structure: a simulation study / G. Evanno, S. Regnaut, J. Goudet // *Molecular Ecology.* – 2005. – V. 14. – P. 2611-2620.

Ezzahiri, B. Leaf rust of durum wheats / B. Ezzahiri [In eds: Royo C., Nachit M., Di Fonzo N., Araus J.L.] // Durum wheat improvement in the Mediterranean region: New challenges). Zaragoza: CIHEAM Options Méditerranéennes: Série A. Séminaires Méditerranéens, 2000. – V. 40. – P. 357-361.

Ezzahiri, B. *Anchusa italica* as an alternate host for leaf rust in Morocco / B. Ezzahiri, S. Diouri, A.P. Roelfs // Plant Dis. – 1992. – V. 76. – P. 1185.

Ezzahiri, B. Pathogenicity of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* in Morocco in the period 1993-1995 / B. Ezzahiri, Ouassou, A. Mzada, K. Kema [In eds: G.H.J., Niks, R.E. and Daamen R.A.] / In: Proc. IX European and Mediterranean Cereal Rusts and Powdery Mildews Conference Cereal Rusts and Powdery Mildews Bull., 24 Suppl. – Lunteren (The Netherlands), 1996 – P. 83-85.

Fernandez, M.R. Diseases of durum wheat In: Durum wheat (2nd edn). Chemistry and Technology / M.R. Fernandez, R.E. Knox. – 2012. – P. 57-71.

Giraud, T. Population genetics of fungal disease of plant / T. Giraud, J. Enjalbert, E. Fournier // Parasite. – 2008. – V. 15. – C. 449–454.

Goyeau, H. Clonality and host selection in the wheat pathogenic fungus *Puccinia triticina* / H. Goyeau, F. Halkett, M.F. Zapater et al. // Fungal Genetics and Biology. – 2007. – V. 44. – P. 474-483.

Goyeau, H. Distribution of pathotypes with regard to host cultivars in French wheat leaf rust populations / H. Goyeau, R. Park, B. Schaeffer, C. Lannou // Phytopathology. – 2006. – V. 96. – P. 264-273.

Goyeau, H. Low diversity and fast evolution in the population of *Puccinia triticina* causing durum wheat leaf rust in France from 1999 to 2009, as revealed by an adapted differential set / H. Goyeau, J. Berder, C. Czerepak, A. Gautier, C. Lanen, C. Lannou // Plant Pathol. – 2012. – P. – V.61. – P. 761-772.

Gulyaeva E.I. Virulence of *Puccinia triticina* on *Triticum* and *Aegilops* species / E.I. Gulyaeva, E.L. Shaydayuk, N.P. Goncharov, A. Akhmetova, K.M. Abdullaev, M.H. Belousova, E. Kosman // Australasian Plant Pathology. – 2016. – V. 45(2). – P. 155-163.

Gulyaeva, E. Evaluation of resistance of spring durum wheat germplasm from Russia and Kazakhstan to fungal foliar pathogens / E. Gulyaeva, V. Yusov, M. Rosova, P. Mal'chikov, E. Shaydayuk, N. Kovalenko, R. Wanyera, A. Morgounov, G. Yskakova, A. Rsaliyev // *Cereal Research Communications*. – (in press).

Gulyaeva, E.I. Microsatellite analysis of *Puccinia triticina* from *Triticum* and *Aegilops* hosts / E.I. Gulyaeva, E.L. Shaydayuk, I.A. Kazartsev, A. Akhmetova, E. Kosman // *Australasian Plant Pathology*. – 2018. – V. 47(2). – C.163-170.

Gupta, S.K. Development and validation of molecular markers linked to an *Aegilops umbellulata*-derived leaf rust- resistance gene, Lr9, for marker-assisted selection in bread wheat / S.K. Gupta, A. Charpe, S. Koul et al. // *Genome*. - 2005. - V. 48(5). - P. 823–830.

Gupta, S.K. Identification and validation of molecular markers linked to the leaf rust resistance gene Lr19 in wheat / S.K. Gupta, A. Charpe, K.W. Prabhu, O.M.R. Haque // *Theor. Appl. Genet.* – 2006. – V.113. – P.1027–1036.

Helguera, M. PCR assays for the *Lr37–Yr17–Sr38* cluster of rust resistance genes and their use to develop isogenic hard red spring wheat lines / M. Helguera, I.A. Khan, J. Kolmer et al. // *Crop Science*. – 2003. – V.43. – P.1839-1847.

Henderson, D.M. The British Carex rust fungi / D.M. Henderson // *Notes from the Royal Botanical Garden Edinburgh*. –1961. – V. 23(3) – P. 223-248.

Herrera-Foessel, S. Identification and molecular characterization of leaf rust resistance gene *Lr14a* in durum wheat / S. Herrera-Foessel, R. Singh, J. Huerta- Espino, H. William, V. Garcia, A. Djurle, J. Yuen // *Plant Dis.* – 2008a. – V. 92. – P. 469-473.

Herrera-Foessel, S. Molecular mapping of a leaf rust resistance gene on the short arm of chromosome 6B of durum wheat / S. Herrera-Foessel, R. Singh, J. Huerta-Espino, H.M. William , A. Djurle, J. Yuen // *Plant Dis.* – 2008b. –V. 92(12). – P. 1650-1654.

Herrera-Foessel, S. New genes for leaf rust resistance in CIMMYT durum wheats / S. Herrera-Foessel, R. Singh, J. Huerta-Espino, J. Yuen, A. Djurle // *Plant Dis.* – 2005. – V. 89. – P. 809-814.

Herrera-Foessel, S.A. Effect of leaf rust on grain yield and yield traits of durum wheats with racespecific and slow-rusting resistance to leaf rust / S.A., Herrera-Foessel, R.P., Singh, J. Huerta-Espino, J. Crossa, J. Yuen, A. Djurle // Plant Dis. – 2006. – V. 90. – P. 1065-1072.

Herrera-Foessel, S.A. *Lr72* confers resistance to leaf rust in durum wheat cultivar Atil C2000 / S.A. Herrera-Foessel, J. Huerta-Espino, V. Calvo-Salazar, C.X. Lan, R.P. Singh // Plant Dis. – 2014. – V. 98. – P. 631-635.

Herrera-Foessel, S.A. New slow rusting leaf rust and stripe rust resistance genes *Lr67* and *Yr46* are pleiotropic or closely linked / S.A. Herrera-Foessel, E.S. Lagudah, J. Huerta-Espino, M. Hayden, H.S. Bariana, D. Singh, R.P. Singh // Theor. Appl. Genet. – 2011. – V. 122 – P. 239-249.

Huerta-Espino J. Global status of wheat leaf rust caused by *Puccinia triticina* / J. Huerta-Espino, R. P. Singh, S. German et al. // Euphytica. – 2011. – V. 179. –P. 143-160.

Huerta-Espino, J. Leaf rust on durum wheats / J.Huerta-Espinoand, A.P. Roelfs // Vortr. Pflanzenzuchtg. – 1992. – V. 24 – P. 100-102.

Huerta-Espino, J. Phenotypic variation among leaf rust isolates from durum wheat in Northwestern Mexico / J.Huerta-Espino, R.Singh, J. Perez-Lopez // Cereal Rusts Powdery Mildews Conf. – 2009. – P. 29.

Huerta-Espino, J. Physiological specialization of leaf rust on durum wheat / J.Huerta-Espinoand, A.P. Roelfs // Phytopathology. – 1989. – V. 79. – P. 1218.

Justesen, A.F. The recent history of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in Denmark as revealed by disease incidence and AFLP markers / A.F. Justesen, C.J. Ridout, M.S. Hovmøller // Plant Pathology. – 2002. – V. 51. – P. 13-23.

Khan, R.R. Molecular mapping of stem and leaf rust resistance in wheat / R.R. Khan, H.S. Bariana, B.B. Dholakia, S.V. Naik, M.D. Lagu, A.J. Rathjen, S. Bhavani, V.S. Gupta // Theor. Appl. Genet. – 2005. – V. 111. – P. 846-850.

Kolmer, J.A. Endemic and panglobal genetic groups, and divergence of host-associated forms in worldwide collections of the wheat leaf rust fungus *Puccinia triticina* as determined by genotyping by sequencing / J.A. Kolmer, A.M. Herman, E.

Ordoñez, S. German, A. Morgounov, Z. Pretorius, B. Visser, Y. Anikster, M. Acevedo // *Heredity*. – 2019 (in press).

Kolmer, J.A. First report of a wheat leaf rust (*Puccinia triticina*) Phenotype with high virulence to durum wheat in the great plains region of the United States / J.A. Kolmer // *Plant Dis.* – 2015a. – V. 99(1). – P.156.

Kolmer, J.A. Genetic differentiation of *Puccinia triticina* populations in the Middle East and genetic similarity with populations in Central Asia / J.A. Kolmer, M.E. Ordoñez, J. Manisterski, Y. Anikster // *Phytopathology*. – 2011. – V. 101. – P. 870-877.

Kolmer, J.A. Genetic differentiation of *Puccinia triticina* populations in Central Asia and the Caucasus / J.A. Kolmer, M.E. Ordonez // *Phytopathology*. – 2007. – V. 97. – P.1141-1149.

Kolmer, J.A. Genetic differentiation of the wheat leaf rust fungus *Puccinia triticina* in Europe / J.A. Kolmer, A. Hanzalova, H. Goyeau, R. Bayles, A. Morgounov // *Plant Pathol.* – 2013. – V. 62(1). – P. 21-31.

Kolmer, J.A. Genetic variation and differentiation in global populations of the wheat leaf rust fungus, *Puccinia triticina* / J.A. Kolmer, M. Ordoñez, S. German et al. // BGRI 2018 Poster Abstract. Режим доступа: <https://www.globalrust.org/all-bgri-abstracts>

Kolmer, J.A. Leaf rust of wheat: pathogen biology, variation and host resistance / J.A. Kolmer // *Forests*. – 2013. – V.4. – P.70–84.

Kolmer, J.A. Russian populations of *Puccinia triticina* in distant regions are not differentiated for virulence and molecular genotype / J.A. Kolmer, M.G. Kabdulova, M.A. Mustafina // *Plant Pathol.* – 2015b. – V.64. – P.328–336.

Kosman, E. Conceptual analysis of methods applied to assessment of diversity within and distance between populations with asexual or mixed mode of reproduction / E. Kosman, K.J. Leonard // *New Phytologist*. – 2007. – V. 174. – P. 683-696.

Kosman, E. Difference and diversity of plant pathogen populations: a new approach for measuring / E. Kosman // *Phytopathology*. – 1996. – V.86. – P. 1152-1155.

Kosman, E. Diversity of virulence phenotypes among annual populations of wheat leaf rust in Israel from 1993 to 2008 / E. Kosman, P. Ben-Yehuda, J Manisterski // *Plant Pathology* . – 2014 – V. 63. – P. 563-571.

Kosman, E. Virulence Analysis Tool (VAT) / E. Kosman, A. Dinoor, A. Herrmann, G.A. Schachtel // *User Manual*. - 2008. Режим доступа: <http://www.tau.ac.il/lifesci/departments/plants/memrs/kosman/VAT.html>

Lagudah, E.S. Molecular genetic characterization of the *Lr34/Yr18* slow rusting resistance gene region in wheat / E.S. Lagudah, H. McFadden, R.P. Singh et al. // *Theor. Appl. Genet.* – 2006. – V. 114. – P. 21–30.

Liu, M. Population divergence in the wheat leaf rust fungus *Puccinia triticina* is correlated with wheat evolution / M. Liu, N.Rodrigue, J.Kolmer // *Heredity*. – 2014. – V. 112(4) – P. 443-53.

Long, D.L. A North American system of nomenclature for *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* / D.L. Long, J.A. Kolmer // *Phytopathology*. – 1989. – V. 79. – P. 525–529.

Mago, R. Development of PCR markers for the selection of wheat stem rust resistance genes Sr24 and Sr26 in diverse wheat germplasm / R. Mago, H.S. Bariana, I.S. Dundas // *Theor. Appl. Genet.* – 2005. – V.111. – P. 496–504.

Mago, R. High-resolution mapping and mutation analysis separate the rust resistance genes *Sr31*, *Lr26* and *Yr9* on the short arm of rye chromosome 1 / R. Mago, H. Miah, G.J. Lawrence et al. // *Theor. Appl. Genet.* – 2005. – V.112. – P. 41-50.

Maier, U. Morphological studies of free-threshing wheatears from a Neolithic site in southwest Germany, and the history of the naked wheats / U. Maier // *Veg. Hist. Archaeobot.* – 1996. – V. 5. – P. 39-55.

Mains, E.B. Physiologic specialization in the leaf rust of wheat; *Puccinia triticina* Erikss. / E.B. Mains, H.S. Jackson // *Phytopathol.* – 1926. – V.16. – P. 89-120.

Mantovani, P. Virulence phenotypes and molecular genotypes in collections of *Puccinia triticina* from Italy / P. Mantovani, M. Maccaferri, R. Tuberosa, J. Kolmer // *Plant disease*. – 2010. – V. 94. – P. 420-424.

Marasas, C.N. The economic impact of productivity maintenance research: Breeding for leaf rust resistance in modern wheat / C.N. Marasas, M. Smale, R.P. Singh // *Agricultural Economics*. – 2003. – V. 29. – P. 253-263.

Martinez, F. Pathogenic specialization of *Puccinia triticina* in Andalusia from 1998 to 2000 / F.Martinez, J.C. Sillero, D.J. Rubiales // *Phytopathology*. – 2005. – V. 153. – P. 344-349.

McIntosh, R.A. Catalogue of gene symbols for wheat: 2009 supplement / R.A. McIntosh., J. Dubcovsky, W.J. Rogers, C. Morris, R. Appels, X.C. Xia. – 2009. <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/macgene/supplement2009.pdf>

McIntosh, R.A. Cytogenetical Studies in Wheat. VII Gene *Lr23* for Reaction to *Puccinia recondita* in Gabo and Related Cultivars / R.A. McIntosh, P.L. Dyck // *Australian Journal of Biological Sciences*. – 1975. – V. 28. – P. 201-212.

McIntosh, R.A. Wheat rusts. An atlas of resistance genes / R.A. McIntosh, C.R. Wellings, R.F. Park // CSIRO Australia, Kluwer Acad. Publ., Dordrecht, the Netherlands. – 1995. 213 c.

Nei, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals / M. Nei // *Genetics*. – 1978. – V. 89. – P. 583-90.

Nei, M. The genetic distance between populations / M. Nei // *American Naturalist*. – 1972. – V. 106. – № 949. – P. 283-291.

Nelson, J.C. Mapping genes conferring and suppressing leaf rust resistance in wheat / J.C. Nelson, R.P. Singh, J.E. Autrique, M.E. Sorrells // *Crop Sci.* – 1997. – V. 37. – P. 1928-1935.

Nesbitt, M. Wheat domestication: archaeobotanical evidence / M. Nesbitt, D. Samuel // *Science*. – 1998. – V. 279(5356). – P.1431.

Ordoñez, M. E. Differentiation of molecular genotypes and virulence phenotypes of *Puccinia triticina* from common wheat in North America / M.E. Ordonez, J.A. Kolmer // *Phytopathol.* – 2009. – V. 99. – P. 750-758.

Ordoñez, M.E. Genetic differentiation within the *Puccinia triticina* population in South America and comparison with the North American population suggests common

ancestry and intercontinental migration / M.E. Ordonez, S.E. German, J.A. Kolmer // *Phytopathol.* – 2010. – V.100. – P. 376-383.

Ordoñez, M.E. Simple sequence repeat diversity of a worldwide collection of *Puccinia triticina* from durum wheat / M.E. Ordoñez, J.A. Kolmer // *Phytopathology.* – 2007b. – V. 97. – P. 574-583.

Ordoñez, M.E. Virulence phenotypes of a Worldwide collection of *Puccinia triticina* from durum wheat. / M.E. Ordoñez, J.A. Kolmer // *Phytopathology.* 2007a. – V. 97(3). – P. 344-351.

Park, R. Pathogenic specialization of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* in Australia and New Zealand in 1990 and 1991 / R. Park // *Australasian Plant Pathol.* – 1996. – V.25. – P. 12-17.

Peakall, R. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update / R. Peakall1, P.E. Smouse // *Bioinformatics.* – 2012. – V. 28(19). – P. 2537-2539.

Rashid, G. Inheritance of leaf rust in three durum wheats / G. Rashid, J.S. Quick, G.D Statler // *Crop Sci.* – 1976. – V.16 – P. 294-296.

Raven, P.H. *Biology of Plants*, 5th Edition / P.H. Raven, R.F. Evert, S.E. Eichhorn. – New York: Worth Publishers, 1992. – 791 p.

Rogers, J.S. Measures of genetic similarity and genetic distance. University of Texas Press / J.S. Rogers. – 1972.

Sacco, F. Mapping of the leaf rust resistance gene *Lr3* on chromosome 6B of Sinvalocho MA wheat / F. Sacco, E.Y. Suárez, T. Naranjo // *Genome.* –1998 . – V. 41(5). – P. 686-690.

Savile, D.B. O. Taxonomy of the cereal rust fungi. The cereal rusts / Savile D. B. O. [Ed. W. R. Bushnell, A.P. Roelfs]. N.Y.: Acad. Press., 1984. – V. 1. – P. 79-112.

Shannon, C.E. The mathematical theory of communication / C.E. Shannon, W. Weaver // University of Illinois Press, Urbana, 1949.

Sheldon, A.L. Equitability indices: dependence on the species count / A.L. Sheldon // *Ecology.* – 1969. – V. 50. – P. 466-467.

Singh, B. Inheritance and chromosome location of leaf rust resistance in durum wheat cultivar Wollaroi / B. Singh, U.K., Bansal, K.L. Forrest, M.J. Hayden, R.A Hare, H.S. Bariana // *Euphytica*. – 2010. – V. 175. – P. 351-355.

Singh, R. Genetic analysis of resistance to leaf rust in nine durum wheats / R. Singh, E. Bechere, O. Abdalla // *Plant Dis.* – 1993. – V. 77. – P. 460-463.

Singh, R.P. Occurrence and impact of a new leaf rust race on durum wheat in Northwestern Mexico from 2001 to 2003 / R.P. Singh, J. Huerta-Espino, W. Pfeiffer, P. Figueroa-Lopez // *Plant disease* – 2004. – V. 88 – P. 703-708.

Statler, G.D Inheritance of virulence of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* on durum and spring wheat cultivars / G.D. Statler // *Phytopathology*. – 1982. – V. 72. – P. 210-213.

Statler, G.D. Inheritance of leaf rust resistance in Leeds durum wheat / G.D. Statler // *Crop Sci.* – 1973. – V. 13. – P. 116-117.

Szabo, L.S. Development of simple sequence repeat markers for the plant pathogenic rust fungus *Puccinia triticina* / L.S. Szabo, J.A. Kolmer // *Mol.Ecol. Notes*. – 2007. – V. 7. – P. 708-710.

Tyrka, M. Development of the single nucleotide polymorphism marker of the wheat *Lr1* leaf rust resistance gene / M. Tyrka, L. Błaszczyk, J. Chełkowski et al. // *Cell Mol. Biol.Lett.* – 2004. – V. 9(4). – P.879-889.

Weng, Y. PCR based markers for detection of different sources of 1AL.1RS and 1BL.1RS wheat-rye translocations in wheat background / Y. Weng, P. Azhaguvel, R.N. Devkota, J.C. Rudd // *Plant Breed.* – 2007. – V.126. – V. 482-486.

Zhang, H. Inheritance of adult plant resistance to leaf rust in six durum wheat cultivars / H. Zhang, D.R. Knott // *Crop Sci.* – 1993. – V. 33(4). – P. 694-697.

Zhang, H. Inheritance of leaf rust resistance in durum wheat / H. Zhang, D.R. Knott // *Crop Sci.* – 1990. – V. 30. – P. 1218-1222.

Zohary, D. The domestication of the plants in the old world: the origin and spread of cultivated plants in West Asia, Europe and Nile Valley / D. Zohary, M. Hopf, E. Weiss. – Oxford: Oxford University Press., 2012.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ПЦР – полимеразно-цепная реакция;
DNA – случайно амплифицируемая полиморфная ДНК;
RAPD – random amplified polymorphic DNA;
SSR – simple sequence repeats, микросателлиты;
AFLP – amplified fragment length polymorphism, полиморфизм длин амплифицированных фрагментов ДНК;
SNP анализ (однонуклеотидный полиморфизм);
RADseq – Маркеры ДНК, ассоциированные с сайтом рестрикции;
СТАВ (ЦТАБ) – Цетилтриметиламмонийбромид;
EDTA (ЭДТА) – Этилендиаминтетрауксусная кислота;
СК, NC – Северо-Кавказский регион;
СВ, MV – Средневожский регион;
У, U – Уральский регион;
ЗС, WS – Западно-Сибирский регион;
Ю_Каз – Южный Казахстан;
D – Дагестан;
Кг – Краснодарский край;
R – Ростовская область;
S – Самарская область;
Ch – Чувашия;
O – Омск;
A – Алтайский край;
Kaz – Казахстан;

ПРИЛОЖЕНИЕ А.

Приложение А. Список изолятов для микросателлитного анализа; их
фенотипы вирулентности и SSR-генотипы

Изолят	Происхож- дение	Год сбора	Фенотип вирулен- тности	SSR генотип	Изолят	Происхож- дение	Год сбора	Фенотип вирулен- тности	SSR генотип	
Северо-Кавказский регион					Средневолжский регион					
Pt67		2017	MCRKG	A	72	Самарская обл.	2017	MCTKH	B	
68			MCRKH	A	73			MCTKH	B	
69			MCRKH	B	74			MCTKH	B	
70			MCRKG	D	75			MCTKH	B	
71			MCRKG	B	22		2018	MCRKG	D	
76			MCRKG	A	44			MCTKG	D	
77			MCRKG	A	45			MCRKG	D	
23		2018	MCRKH	A	46			MCTKG	D	
24			MCRKG	A	47			MCTKG	D	
25			MCRKG	A	63			MCTKG	A	
26			MCTKG	A	64			MCTKG	A	
27			MCRKG	A	65			MCRKG	F	
28			MCTKH	C	66			MCTKG	2	
29			MCRKG	A	4		2019	MCTKG	B	
30			MCRKH	A	5			MCTKG	D	
31			MCRKG	A	6			MCTKG	D	
32			MCRKG	A	98			MCTKG	B	
33			MCRKG	A	99			MCTKG	D	
34			MCRKG	A	100			MCTKG	D	
35			MCRKG	A	13	Чувашия	2018	MCTKG	B	
1		2019	MCRKH	B	14			MCTKG	D	
2			MCRKH	1	98			MCTKG	D	
3			MCTKH	B	99			MCTKG	D	
84			MCRKG	A	50	Уральский регион				
85			MCRKG	A	51	Челябинская область	2018	MCTKH	H	
86			MCRKG	A	52			MCTKH	H	
80	Краснодарский край		2017	MCRKG	A			53	MBTKH	H
81			MCTKG	B	54			MCTKH	H	
82			MCRKG	A	55			MCTKH	H	
8		2018	MCRKG	G	56		MCTKH	I		

Продолжение таблицы 1.

Изолят	Происхож- дение	Год сбора	Фенотип вирулен- тности	SSR генотип	Изолят	Происхож- дение	Год сбора	Фенотип вирулен- тности	SSR генотип
9	Краснодарский край	2018	MCRKG	A	57	Челябинская область	2018	MCTKH	H
10			MCRKH	A	59			MCTKG	F
11			MCTKH	A	7			MCTKG	G
12			MCTKG	B	100		2019	MBTKG	B
87		2019	MCRKG	A	101			MCTKH	I
88			MCTKG	B	102			MCTKH	I
89			MCRKG	A	103			MCTKH	I
90			MCRKG	A	48		MBTKG	D	
91			MCRKH	A	49	Западно-Сибирский регион			
92		MCTKH	A	58	Омская область	2018	MCRKH	D	
93		MCTKG	B	60			MCRKH	D	
15	Ростовская область	2018	MCTKG	A			61	MCTKG	3
16			MCRKG	A			62	MCTKH	I
17			MCRKG	A			104	MCTKH	F
18			MCTKG	A	105	MCTKG	F		
19			MCRKG	A	106	MCRKH	D		
20			MCTKG	B	107	MCRKH	D		
21			MCRKG	F	108	MCTKH	I		
94		2019	MCRKG	A	109	MCTKH	I		
95	MCRKG		A	78	MCTKH	F			
96	MCRKH		B	79	MCTKH	F			
97	MCRKH		B	83	Алтайский край	2017	TCTTR	I	
36	Южный Казахстан	2018	MCRKG	E			104	TCTTR	I
37			MCRKG	F				MCTKH	B
38			MCRKG	D				TCTTR	I
39			MCRKG	D					
40			MCRKG	E					
41			MCRKH	E					
42			MCRKG	C					
43	MCRKG	E							

ПРИЛОЖЕНИЕ Б.

Таблица 1 – Индексы генетических различий по микросателлитным локусам между региональными коллекциями *Puccinia triticina* на твердой пшенице по индексу Нея (N_d)

Коллекции <i>P. triticina</i>	NC_D	NC-Kr	NC_R	MV_S	MV_Ch	U	WS_O	WS_A	Kaz
NC_D	0,000								
NC-Kr	0,002	0,000							
NC_R	0,001	0,001	0,000						
MV_S	0,008	0,007	0,005	0,000					
MV_Ch	0,013	0,014	0,011	0,002	0,000				
U	0,084	0,072	0,078	0,067	0,066	0,000			
WS_O	0,038	0,031	0,030	0,017	0,016	0,022	0,000		
WS_A	0,089	0,072	0,078	0,067	0,072	0,007	0,021	0,000	
Kaz	0,024	0,028	0,024	0,012	0,008	0,079	0,026	0,089	0,000

NC_D – Дагестан, NC_Kr – Краснодарский край, NC_R – Ростовская обл., MV – Средневожский регион, WS – Западно-Сибирский регион, U – Уральский регион.

Таблица 2 – Индексы генетических различий по микросателлитным локусам между региональными коллекциями *Puccinia triticina* на твердой пшенице по индексу Fst

Коллекции <i>P. triticina</i>	NC_D	NC-Kr	NC_R	MV_S	MV_Ch	U	WS_O	WS_A	Kaz
NC_D	0,000	0,248	0,304	0,010	0,059	0,001	0,001	0,001	0,001
NC-Kr	0,009	0,000	0,334	0,034	0,051	0,001	0,001	0,001	0,003
NC_R	0,006	0,000	0,000	0,114	0,094	0,001	0,001	0,001	0,009
MV_S	0,085	0,075	0,040	0,000	0,374	0,001	0,005	0,001	0,054
MV_Ch	0,133	0,137	0,108	0,000	0,000	0,001	0,200	0,006	0,369
U	0,486	0,430	0,441	0,378	0,316	0,000	0,006	0,386	0,001
WS_O	0,291	0,230	0,217	0,115	0,048	0,114	0,000	0,154	0,021
WS_A	0,553	0,503	0,530	0,409	0,373	0,000	0,071	0,000	0,002
Kaz	0,203	0,210	0,175	0,079	0,003	0,328	0,108	0,340	0,000

Fst – представлен под диагональю. Вероятность, P (rand >= data) под диагональю. существенные различия при P < 0.05

Отрицательные значения Fst для коллекции NC-Kr и NC_R (-0,019), MV_S и MV_Ch (-0,025), WS_O и WS_A (-0,022) конвертированы в 0 в программе GenAlEx

(Fst Values below diagonal. Probability, P(rand >= data) based on 999 permutations is shown above diagonal.

Warning! Negative Fst of -0,019 between pops Pop2 and Pop3 converted to zero!

Warning! Negative Fst of -0,025 between pops Pop4 and Pop5 converted to zero!

Warning! Negative Fst of -0,022 between pops Pop6 and Pop8 converted to zero!)

Таблица 3– Индексы генетических различий по микросателлитным локусам между региональными коллекциями *Puccinia triticina* на твердой пшенице по индексу Космана KBm

Коллекции <i>P. triticina</i>	NC_Dag	NC_Kr	NC_R	MV_S	MV_Ch	U	WS_O	WS_A
NC_Dag	0							
NC_Kr	0,021	0						
NC_R	0,017	0,012	0					
MV_S	0,037	0,036	0,028	0				
MV_Ch	0,042	0,044	0,035	0,020	0			
U	0,129	0,112	0,112	0,092	0,088	0		
WS_O	0,102	0,085	0,085	0,065	0,060	0,056	0	
WS_A	0,144	0,126	0,127	0,107	0,102	0,034	0,072	0
Kaz	0,068	0,089	0,080	0,061	0,045	0,123	0,095	0,148