

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук»

На правах рукописи

Кельбин Василий Николаевич

**ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ПОПУЛЯЦИИ
ВОЗБУДИТЕЛЯ СТЕБЛЕВОЙ РЖАВЧИНЫ ПШЕНИЦЫ
PUCCINIA GRAMINIS F. SP. *TRITICI* НА ТЕРРИТОРИИ
ЗАПАДНОЙ СИБИРИ**

1.5.7. — Генетика

Диссертация на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель —
кандидат биологических наук
Сколотнева Екатерина Сергеевна

Новосибирск — 2022

Оглавление

Оглавление.....	2
Введение	6
Глава 1. Обзор литературы	15
1.1 Возделывание яровой мягкой пшеницы в Западной Сибири: география и климатические особенности региона	15
1.2 Систематическая принадлежность и краткая история изучения возбудителей ржавчины пшеницы.....	16
1.3 Внутривидовая дифференциация гриба <i>Puccinia graminis</i>	18
1.3.1 Специальные формы	18
1.3.2 Физиологические расы	20
1.3.3 Расовый состав популяций <i>P. graminis</i> f. sp. <i>tritici</i>	23
1.4 Биологические особенности <i>P. graminis</i>	27
1.4.1 Жизненный цикл гриба.....	27
1.4.2 Процесс инфицирования растения-хозяина	33
1.4.3 Влияние абиотических факторов на развитие <i>P. graminis</i>	33
1.4.4 Роль барбариса в формировании популяции гриба в условиях лесостепи Приобья	36
1.5 Генетические основы вирулентности <i>P. graminis</i>	37
1.6 Молекулярно-генетические методы изучения ржавчинных грибов	40
1.7 Генетическая защита пшеницы к возбудителю стеблевой ржавчины: идентификация и характеристика генов устойчивости <i>Sr</i>	43
1.7.1 Идентификация генов <i>Sr</i> в сортах пшеницы с использованием фитопатологического тестирования.....	46
1.8 Краткое заключение по главе 1	48
Глава 2. Материалы и методы	50
2.1 Споровый материал.....	50
2.1.1 Получение и размножение монопустульных изолятов в условиях лаборатории	51
2.2 Растительный материал	53
2.2.1 Селекционные линии и сорта <i>Triticum aestivum</i> L.	53
2.2.2 Международный североамериканский набор линий-дифференциаторов генов <i>Sr</i>	54
2.2.3 Контрольные сорта и линии <i>T. aestivum</i>	54
2.3 Лабораторные фитопатологические методы	55
2.3.1 Инокуляция растений спорами фитопатогенного гриба.....	55

2.3.2 Определение рас <i>P. graminis</i> f. sp. <i>tritici</i> с использованием международного набора тестерных линий пшеницы.....	55
2.4 Полевая оценка селекционных линий и сортов яровой мягкой пшеницы по устойчивости к <i>P. graminis</i> f. sp. <i>tritici</i>	58
2.5 Молекулярно-генетические методы изучения системы патоген-хозяин	59
2.5.1 Выделение ДНК из гриба и растений пшеницы	59
2.5.2 Секвенирование по Сэнгеру.....	60
2.5.3 SSR-генотипирование монопустульных изолятов <i>P. graminis</i> f. sp. <i>tritici</i>	60
2.5.4 Идентификация генов <i>Sr</i> в селекционных линиях и сортах яровой мягкой пшеницы.....	61
2.5.5 KASP-генотипирование коллекции яровой мягкой пшеницы	62
2.6 Статистический анализ	63
2.6.1 Статистический анализ данных по признаку вируленности мягкой пшеницы .	63
2.6.2 Статистический анализ данных по SSR-генотипированию монопустульных изолятов.....	64
Глава 3. Результаты	65
3.1 Создание коллекции монопустульных изолятов <i>P. graminis</i> f. sp. <i>tritici</i>	65
3.2 Структура западносибирской популяции <i>P. graminis</i> f. sp. <i>tritici</i> по признаку вирулентности.....	65
3.2.1 Анализ состава фенотипов вирулентности западносибирской популяции <i>P. graminis</i> f. sp. <i>tritici</i>	66
3.2.2 Фенотипы вирулентности <i>P. graminis</i> f. sp. <i>tritici</i> в Новосибирской области....	70
3.2.3 Частота вирулентности в западносибирской популяции <i>P. graminis</i> f. sp. <i>tritici</i>	71
3.3 SSR генотипирование коллекции монопустульных изолятов <i>P. graminis</i> f. sp. <i>tritici</i>	73
3.4 Иммуногенетический анализ селекционных линий и сортов мягкой пшеницы	84
3.4.1 Разрешающая способность молекулярных маркеров, разработанных для генов <i>Sr</i>	84
3.4.2 Полевая оценка селекционных линий и сортов мягкой пшеницы на устойчивость к <i>P. graminis</i> f. sp. <i>tritici</i> в условиях южной лесостепи Западной Сибири.....	85
3.4.3 Генотипирование селекционных линий и сортов мягкой пшеницы ДНК-маркерами на гены <i>Sr</i>	90
3.4.4 Фитопатологический анализ селекционных линий и сортов мягкой пшеницы на стадии проростков.....	90
3.5 Расширенный иммуногенетический анализ селекционных линий мягкой пшеницы с транслокацией 2NS/2AS.....	92
3.5.1 Генотипирование селекционных линий мягкой пшеницы по гену <i>Sr38</i>	93
3.5.2 Анализ частоты авирулентных и вирулентных клонов монопустульных изолятов <i>P. graminis</i> f. sp. <i>tritici</i> Западной Сибири к гену <i>Sr38</i>	94

3.5.3 Фитопатологическое тестирование селекционных линий мягкой пшеницы авирулентными к <i>Sr38</i> клонами гриба <i>P. graminis</i> f. sp. <i>tritici</i>	95
Глава 4. Обсуждение	97
4.1 Западносибирская популяция <i>P. graminis</i> f. sp. <i>tritici</i>	97
4.1.1 Вирулентность и фенотипический состав западносибирской популяции <i>P. graminis</i> f. sp. <i>tritici</i>	97
4.1.2 Генетическая структура выборки западносибирской популяции монопустульных изолятов <i>P. graminis</i> f. sp. <i>tritici</i> по микросателлитным локусам.	101
4.1.3 Общая характеристика западносибирской популяции <i>P. graminis</i> f. sp. <i>tritici</i>	105
4.2 Генетика устойчивости яровой мягкой пшеницы к <i>P. graminis</i> f. sp. <i>tritici</i>	107
4.3. Эффективность носителей транслокации 2NS/2AS с геном <i>Sr38</i> в условиях Западной Сибири	110
4.3.1 Частота авирулентных и вирулентных клонов монопустульных изолятов к <i>Sr38</i>	110
4.3.2 Носители доминантных аллелей гена <i>Sr38</i> в транслокации 2NS/2AS	111
Заключение	113
Выводы.....	115
Список сокращений	116
Список литературы	117
Приложения	141
Приложение 1. Сорты и гибриды яровой мягкой пшеницы, высеваемые на территории Новосибирской, Омской областей и Алтайского края	141
Приложение 2. Монопустульные изоляты <i>P. graminis</i> f. sp. <i>tritici</i>	143
Приложение 3. Оценка устойчивости к возбудителю стеблевой ржавчины коллекции селекционных линий и сортов яровой мягкой пшеницы ФГБОУ ВО Омский ГАУ (Омск)	147
Приложение 4. Список сортов и линий яровой мягкой пшеницы ИЦиГ СО РАН (Новосибирская область)	150
Приложение 5. Результаты скрининга генов <i>Sr</i> в коллекции селекционных линий и сортов яровой мягкой пшеницы.....	152
Приложение 6. Последовательности микросателлитных праймеров, использованных для оценки уровня генетического разнообразия популяции <i>P. graminis</i>	155
Приложение 7. Список ДНК-маркеров к генам устойчивости к <i>P. graminis</i> f. sp. <i>tritici</i>	156
Приложение 8. Оптимальные значения <i>K</i> , установленные с помощью онлайн программы Structure Harvester.....	157

Приложение 9. Последовательности праймеров, использованных для поиска генов устойчивости к стеблевой ржавчине (гены <i>Sr</i>).....	158
Приложение 10. Инфекционные типы <i>P. graminis</i> f. sp. <i>tritici</i> раса МТМТС Омской области в 2019 году, идентифицированные на наборе пшеничных линий-дифференциаторов (<i>Pgt</i> differential set).....	160
Приложение 11. Инфекционные типы пшеничных <i>Sr</i> -линий дифференциаторов, полученные в результате заражения образцами омской популяции возбудителя стеблевой ржавчины <i>P. graminis</i> f. sp. <i>tritici</i>	161

Введение

Puccinia graminis Pers.: Pers. f. sp. *tritici* Erikss. and E. Henn. — биотрофный гриб, один из самых агрессивных патогенов зерновых культур — возбудитель стеблевой ржавчины злаков — может обуславливать высокие потери урожая мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), твердой пшеницы (*T. turgidum* L. var. *durum*), ячменя (*Hordeum vulgare* L.) и тритикале ($\times$ *Triticosecale* Wittm. ex A. Camus). Гриб способен инфицировать растения в течение всего периода вегетации, он продуцирует огромное количество спор красно-оранжевого цвета (урединиоспоры), высвобождающихся разрывом, под своей массой, эпидермиса стеблей, листьев или листовых влагалищ, колосьев, чешуек и зёрен. Патоген вызывает нарушение транспирации стеблей растений, снижает их фотосинтетическую способность, что влияет на качество зерна и его хлебопекарные свойства. Кроме этого, в результате поражения снижается прочность стеблей, что может приводить к полеганию растений (Roelfs, 1992; Leonard, Szabo, 2005). При благоприятных климатических условиях заболевание может получить широкое распространение и эпифитотийное развитие и вызвать огромные потери урожая.

Начиная с 2011 года во многих регионах возделывания мягкой пшеницы идет характерное ухудшение фитопатологической обстановки в отношении возбудителя стеблевой ржавчины злаковых: в странах Северной и Южной Америки (Singh et al., 2016), Восточной Африки (Patroux et al., 2016a; 2016b), в странах Западной Европы (Lewis et al., 2018), Республике Казахстан (Рсалиев, Рсалиев, 2018) и Российской Федерации (Шаманин и др., 2015).

Ранее неизвестная раса, в дальнейшем названная по месту возникновения (Уганда, Эфиопия) Ug99 (TTKSK), является высокоагрессивной расой, преодолевшая эффективность гена устойчивости пшеницы *Sr31*, что вызвало масштабные потери урожая (до 80 %), которые не фиксировали последние 25–30 лет (Шаманин и др., 2015). На данный момент выявлено более 80 генов устойчивости (гены *Sr*) к возбудителю стеблевой ржавчины, часть из них уже потеряли свою эффективность к семейству рас Ug99 (McIntosh et al., 2013). По данным СИММИТ (CIMMYT), эффективность к расе TTKSK сохраняют гены *Sr2*, *Sr13*, *Sr14*, *Sr22*, *Sr24*, *Sr25*, *Sr26*, *Sr27*, *Sr28*, *Sr29*, *Sr32*, *Sr33*, *Sr35*, *Sr36*, *Sr37*, *Sr39*, *Sr40*, *Sr43*, *Sr44*, *Sr45*, *Sr47*, *SrTmp* и *1A.1R* (Singh et al., 2006). Новые расы Ug99 представляют серьезную угрозу пшенице во всем мире (Singh et al., 2011; 2015;

Fetch et al., 2016), включая производственные посевы пшеницы в Казахстане, Западной Сибири, на Урале и в других регионах Российской Федерации (Shamanin et al., 2019, 2020).

Начиная с 2009 года в фитопатогенном комплексе пшеницы Западной Сибири *P. graminis* f. sp. *tritici* стал регистрироваться с высокой частотой, достигая в отдельные годы высокого уровня развития и нанося значительный экономический ущерб производству пшеницы в регионе: Омская область — 2009, 2014 годы и Новосибирская область — 2007, 2010, 2011, 2016 годы (Сочалова, Лихенко, 2015; Шаманин и др., 2015, Сколотнева, Салина, 2016). Вероятные причины широкого распространения *P. graminis* f. sp. *tritici* связаны с ухудшением фитосанитарной ситуации в регионе, изменением климата в сторону потепления и возделыванием восприимчивых сортов пшеницы на больших площадях (Шаманин и др., 2015).

Генетическая защита от возбудителя стеблевой ржавчины наиболее эффективна и экологически безопасна. Для успешной её реализации необходимо проведение опережающей селекции по созданию новых сортов, разнообразных по типам устойчивости и генам её контролирующим. Для корректного использования доноров устойчивости в селекции новых сортов особую актуальность представляют популяционные исследования патогена, в результате которых характеризуется динамика эффективности известных генов устойчивости пшеницы и расового состава патогена, определяется генетический дрейф и направления миграции спор. Для своевременной сортосмены необходим запас генетически охарактеризованных доноров и источников устойчивости.

Таким образом, комплексное исследование патосистемы «мягкая пшеница — возбудитель стеблевой ржавчины» позволяет спрогнозировать возможные изменения фитосанитарной ситуации с болезнью на производственных посевах и оптимизировать защитные мероприятия в регионе.

Цели и задачи исследования

Целью данного исследования является определение генетического полиморфизма западносибирской популяции *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* с помощью молекулярных маркеров и признаку вирулентности к тестерным и селекционным линиям яровой мягкой пшеницы.

Для реализации этой цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Создание коллекции монопустульных изолятов *P. graminis* f. sp. *tritici*.
2. Изучение генетической структуры западносибирской популяции *P. graminis* f. sp. *tritici* с помощью молекулярных маркеров и признаку вирулентности к линиям-дифференциаторам.
3. Анализ распределения генов *Sr* в селекционных линиях и их вклад в формирование устойчивости к возбудителю стеблевой ржавчины в Западной Сибири.

Научная новизна

Создана уникальная коллекция монопустульных изолятов *P. graminis* f. sp. *tritici*, отобранных по признаку вирулентности и агрессивности из западносибирской популяции. Для каждого из них на тестерных изогенных *Sr*-линиях пшеницы (*P. graminis* f. sp. *tritici* differential set) определена раса и проведена фотосъемка реакции на заражение.

Анализ генетического полиморфизма SSR-локусов монопустульных изолятов *P. graminis* f. sp. *tritici* впервые позволил дифференцировать две самостоятельные популяции патогена на территории возделывания мягкой пшеницы в разных регионах умеренно климатической зоны: европейскую — в Центральном регионе и азиатскую — в Западной Сибири, индексы генетического расстояния $F_{ST} = 0.248$; $R_{ST} = 0.972$.

Современная западносибирская популяция *P. graminis* f. sp. *tritici* с широким охватом географических выборок впервые охарактеризована по вирулентности и селективно-нейтральным маркерам и определена как совокупность трех субпопуляций (омская, новосибирская и алтайская субпопуляции) в единую азиатскую популяцию, имеющую специфический состав фенотипов вирулентности с доминантными расами

TKRPF и MTMTC. Сравнительная оценка полиморфизма SSR-локусов монопустульных изолятов *P. graminis* f. sp. *tritici* позволила предположить интенсивную миграцию патогена на данной территории, а также подобрать набор молекулярных маркеров для диагностики происхождения инфекционного материала.

Полевые наблюдения и лабораторные эксперименты с растениями-хозяевами указали на низкую вероятность сохранения инфекции в осенне-весенний период в условиях Новосибирской области. Своеобразие современной новосибирской субпопуляции *P. graminis* f. sp. *tritici* заключается в том, что она представляет собой смесь омских и алтайских генотипов.

При генотипировании коллекции селекционных линий и сортов яровой мягкой пшеницы ОмГАУ идентифицировано многообразие генов *Sr*, способных обеспечить эффективную защиту от доминантных западносибирских рас *P. graminis* f. sp. *tritici*.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Полученные результаты вносят новые знания о популяционной биологии гриба-патогена *P. graminis* f. sp. *tritici* и могут быть использованы в фундаментальных исследованиях, направленных на изучение структуры и разнообразия популяций. Так, в ходе работы охарактеризована западносибирская популяция возбудителя стеблевой ржавчины пшеницы по селективно-нейтральным молекулярным маркерам и вирулентности. Результаты исследования могут быть использованы при составлении прогнозов вероятного изменения фитосанитарной ситуации и при мониторинге миграции спор. Созданная коллекция монопустульных изолятов *P. graminis* f. sp. *tritici* Западной Сибири с охарактеризованными расами является тестерным материалом для фитопатологического анализа сортов и линий пшеницы; списки расового состава западносибирской популяции *P. graminis* f. sp. *tritici* являются информационной базой для программ по опережающей селекции устойчивых сортов пшеницы в Западной Сибири. Рекомендована коллекция селекционных линий и сортов яровой мягкой пшеницы в количестве 51 эффективных доноров генов устойчивости к *P. graminis* f. sp. *tritici* для использования в условиях Западной Сибири.

Положения, выносимые на защиту

1. Генетическая структура западносибирской популяции гриба *P. graminis* f. sp. *tritici* — возбудителя стеблевой ржавчины у мягкой яровой пшеницы, отличается от европейской по набору селективно-нейтральных микросателлитных маркеров и признаку вирулентности.
2. Доминантные расы западносибирской популяции *P. graminis* f. sp. *tritici* высоко агрессивны по отношению к сортам пшеницы, генотипы которых несут гены *Sr* (Stem rust) устойчивости *Sr5*, *Sr7b*, *Sr6*, *Sr8a*, *Sr9g*, *Sr36*, *Sr17*, *Sr9a*, *Sr10*, *SrTmp* или *SrMcN*.
3. Сорта яровой мягкой пшеницы, генотип которых включает гены устойчивости *Sr24*, *Sr25*, *Sr31*, *Sr44* или *Sr57*, невосприимчивы к расам возбудителя стеблевой ржавчины, распространенным в Западно-Сибирском регионе.

Личный вклад автора

Личный вклад автора заключается в выполнении основного объема теоретических и экспериментальных исследований по теме данной работы, включая анализ литературных источников, планирование и осуществление экспериментальных работ, анализ и обработку полученных данных, а также оформление результатов в виде публикаций и научных докладов.

Полевая оценка коллекции сортов пшеницы ФГБОУ ВО Омский ГАУ на устойчивость/восприимчивость к возбудителю стеблевой ржавчины на территории Омской области была осуществлена доктором с-х наук Шаманиным В.П. Под руководством канд. биол. наук Сколотневой Е.С. совместно с Рощиной О.А. и Морозовой Е.В. проведено получение монопустульных изолятов *P. graminis* f. sp. *tritici* и выполнены фитопатологические работы по оценке вирулентности.

Структура и объем работы

Диссертационная работа состоит из оглавления, введения, обзора литературы, описания использованных материалов и методов, результатов и обсуждения, заключения, выводов, списка сокращений, списка цитируемой литературы и приложений.

Диссертация изложена на 161 странице печатного текста, иллюстрирована 14 рисунками, содержит 23 таблицы и 11 приложений.

Благодарности

Автор выражает искреннюю благодарность своим научным руководителям и наставникам: доктору биол. наук, проф. Салиной Елене Артёмовне и канд. биол. наук Сколотневой Екатерине Сергеевне, руководителю лаборатории молекулярной фитопатологии, за помощь в освоении фитопатологических методов и за большой вклад в дизайн диссертационной работы. Автор выражает благодарность доктору с-х наук, проф. Шаманину В.П. и доктору биол. наук Леоновой И.Н. за предоставление семенного материала. Автор благодарит сотрудников лаборатории молекулярной генетики и цитогенетики растений: доктора биол. наук. Щербаня А.Б., канд. биол. наук Сергееву Е.М., канд. биол. наук Киселеву А.А., Нестерова М.А. и Стасюк А.И. — за ценные рекомендации и помощь в освоении молекулярно-генетических методов. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 17-29-08018 и № 19-316-90051.

Апробация работы

Результаты работы были представлены на российских и международных научных конференциях: (1) 11th International Multiconference «Bioinformatics of Genome Regulation and Structure\Systems Biology» (BGRS\SB — 2018), 20–25 августа 2018, Новосибирск, Россия; (2) Всероссийская научно-практическая конференция «Биотехнология и общество в XXI веке», 24–26 сентября 2018, Барнаул, Россия; (3) 5th International Scientific Conference «Plant genetics, genomics, bioinformatics, and biotechnology» (PlantGen — 2019), 24–29 июня 2019, Новосибирск, Россия; (4) 18th Congress of European Mycologists, 16–21 сентября 2019, Warsaw-Białowieża, Poland; (5) 12th International Multiconference «Bioinformatics of Genome Regulation and Structure/Systems Biology» (BGRS/SB — 2020), 06–10 июля 2020, Новосибирск, Россия; (6) XXVII Международная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов — 2020», 10–27 ноября 2020, Москва, Россия; (7) 5-я Международная конференция «Генофонд и селекция растений» (GPB — 2020), 11–13 ноября 2020, Новосибирск, Россия; (8) 6th International Scientific

Conference «Plant genetics, genomics, bioinformatics, and biotechnology» (PlantGen — 2021), 14–18 июня 2021, Новосибирск, Россия.

Публикации

Основные результаты по теме диссертационной работы были опубликованы в 17 работах, четыре из них в отечественных и зарубежных реферируемых журналах, входящих в международные базы цитирования (WoS, Scopus), одна зарубежная статья, входящая в международные базы цитирования (PubMed Central, DOAJ, Chemical Abstracts Service) и 12 тезисов в международных конференциях.

По материалам работы опубликованы следующие статьи:

1. Сколотнева Е. С., **Кельбин В. Н.**, Моргунов А. И., Бойко Н. И., Шаманин В. П., Салина Е. А. Расовый состав новосибирской популяции *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* // Микология и фитопатология. – 2020. – Т. 54. – №. 1. – С. 49–58. <https://doi.org/10.31857/S0026364820010092>
2. Skolotneva E. S., Kosman E., Patpour M., **Kelbin V. N.**, Morgounov A., Shamanin, V. P., Salina E. A. Virulence Phenotypes of Siberian Wheat Stem Rust Population in 2017–2018 // *Frontiers in Agronomy*. – 2020. – Vol. 2. – P. 6. <https://doi.org/10.3389/fagro.2020.00006>
3. **Кельбин В. Н.**, Сколотнева Е. С., Салина Е. А. Возможности и перспективы формирования генетической защиты мягкой пшеницы от стеблевой ржавчины в Западной Сибири // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2020. – Т. 24. – №. 8. – С. 821–828. <https://doi.org/10.18699/VJ20.679>
4. Сколотнева Е. С. **Кельбин В. Н.**, Шаманин В. П., Бойко Н. И., Апарина В. А., Салина Е. А. Ген *Sr38*: значение для селекции мягкой пшеницы в условиях Западной Сибири // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2021. – Т. 25. – №. 7. – С. 740–745. <https://doi.org/10.18699/VJ21.084>
5. **Kelbin V. N.**, Skolotneva E. S., Shamanin V. P., Salina E. A. Diversity of stem rust resistance in modern Siberian bread wheat (*Triticum aestivum*) germplasm // *Plant Breeding*. – 2022. – P. 1–10. <https://doi.org/10.1111/pbr.12999>

Тезисы конференций по теме работы:

1. **Кельбин В. Н.**, Сколотнева Е. С., Сергеева Е. М., Конькова С. И., Салина Е. А. Фитопатологические и молекулярные подходы для изучения инфекционных стадий гриба *Puccinia graminis*, развивающегося в условиях лесостепи Приобья // Биотехнология и общество в XXI веке. – 2018. – С. 62.
2. Sergeeva E. M., Skolotneva E. S., **Kelbin V. N.**, Konkova S. I., Nesterov M. A., Salina E. A. The evaluation of reproduction type of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* population prevailing in West Siberia // Bioinformatics of Genome Regulation and Structure\Systems Biology. – 2018. – P. 184–184.
3. Skolotneva E. S., **Kelbin V. N.**, Piskarev V. V., Salina E. A. Polymorphism of the stem rust population on avirulence genes in Western Siberia // Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics, and Biotechnology (PlantGen — 2019). – 2019. – P. 195–195.
4. **Kelbin V. N.**, Skolotneva E. S., Vidich S., Nesterov M. A., Sergeeva E. M., Salina E. A. Development of the panel of SSR markers to estimate the level of genetic diversity among the Siberian stem rust population // Current Challenges in Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics, and Biotechnology. – 2019. – Vol. 24. – P. 56.
5. **Kelbin V. N.**, Nesterov M. A., Vidich S., Skolotneva E. S., Sergeeva, E. M., Salina, E. A. Assessment of genetic diversity among Siberian stem rust isolates using SSR markers // Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics, and Biotechnology. – 2019. – P. 97–97.
6. **Kelbin V. N.**, Skolotneva E. S., Vidich S., Salina E. A. 2019. Stem rust infection in Novosibirsk region: life cycle and origin. In: Mleczko P. (ed.), Abstract Book, XVIII Congress of European Mycologists, 16–21 September 2019, Warsaw-Białowieża, Poland. Polish Mycological Society, Warsaw, P. 128
7. Сколотнева Е. С., **Кельбин В. Н.**, Сергеева Е. М. Салина Е. А. Роль барбариса в формировании популяции возбудителя стеблевой ржавчины в Новосибирской области // IV Всероссийский съезд по защите растений с международным участием «Фитосанитарные технологии в обеспечении независимости и конкурентоспособности АПК России». – 2019. – С. 87.

8. **Kelbin V. N.**, Sergeeva E. M., Salina E. A., Skolotneva E. A. The prospects for the study of the avirulence genes characteristic for the West Siberian population of wheat stem rust *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* // Bioinformatics of genome regulation and structure/systems biology (BGRS/SB — 2020). – 2020. – P. 319–320.
9. **Кельбин В. Н.**, Салина Е. А. Эпидемиология стеблевой ржавчины в Западной Сибири: применение SSR маркеров [Электронный ресурс] / Отв.ред. И. А. Алешковский, А. В. Андриянов, Е. А. Антипов. – Электрон. текстовые дан. (1500 Мб.) – М.: МАКС Пресс, 2020. – Режим доступа: https://lomonosov-msu.ru/archive/Lomonosov_2020/index.htm, свободный – Материалы Международного молодежного научного форума «Ломоносов — 2020». ISBN 978-5-317-06417-4
10. **Кельбин В. Н.**, Сколотнева Е. С., Морозова Е. В., Салина Е. А. Использование расширенной панели молекулярных маркеров на гены устойчивости (*Sr21*, *Sr23*, *Sr35*, *Sr36*, *Sr38*) к стеблевой ржавчине на сортах мягкой и твердой пшеницы // V Международная конференция «Генофонд и селекция растений». – 2020. – С. 324.
11. **Kelbin V. N.**, Skolotneva E. S., Shamanin V. P., Salina E. A. Advanced panel of molecular markers identifying of stem rust resistance genes *Sr2*, *Sr15*, *Sr21*, *Sr22*, *Sr23*, *Sr24*, *Sr25*, *Sr26*, *Sr31*, *Sr35*, *Sr36*, *Sr38*, *Sr39*, *Sr45*, *Sr57*, *Lr6Ai#2* in Siberian wheat cultivars // Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics, and Biotechnology (PlantGen — 2021). – 2021. – P. 107.
12. Laprina Yu. V., **Kelbin V. N.**, Skolotneva E. S., Kolomiets T. M., Kiseleva M. I., Baranova O. A. Microsatellite markers for regional differentiation of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* populations. // Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics, and Biotechnology (PlantGen — 2021). – 2021. – P. 136.

Глава 1. Обзор литературы

1.1 Возделывание яровой мягкой пшеницы в Западной Сибири: география и климатические особенности региона

Мягкая пшеница (*Triticum aestivum* L.) — ценная сельскохозяйственная культура, адаптированная к возделыванию в различных эколого-климатических условиях. Зерно пшеницы является важным сырьем для производства мучных изделий и экспортным продуктом питания. В связи с этим под возделывание пшеницы выделяются значительные площади.

За 2019 год общая площадь посевов пшеницы в мире составила 218 млн га (по данным Kleffmann Group). В 2021 году масштаб посевных площадей пшеницы в России достиг 28069.8 тыс. га, из них озимая пшеница высевалась на площади 15802 тыс. га (56.3 %), яровая — на 12268 тыс. га (43.7 %). Основные регионы возделывания пшеницы в России — степные и лесостепные районы Поволжья, Урала, Западной и Восточной Сибири. В России возделывают два основных вида яровой пшеницы: мягкую (*T. aestivum*) и твердую (*T. durum*), и в незначительной степени полбяную пшеницу (*T. dicoccum*).

Западно-Сибирский регион Российской Федерации простирается с запада на восток — между Уральскими горами и руслом реки Енисей. На севере граничит с Северным Ледовитым океаном и на юге имеет границу с Казахстаном, Китаем и Монголией. Яровая пшеница в регионе возделывается в зонах южной лесостепи и степи, которые характеризуются большим дефицитом влаги, неустойчивым и неравномерным распределением осадков, как по годам, так и в течение вегетационного периода и ограниченным периодом вегетации. Яровая пшеница выращивается в Западной Сибири на площади 7 млн га, средняя её урожайность составляет 1.6–1.8 т/га (Гончаров, 2013).

На данный момент в Западно-Сибирском регионе в реестре допущенных к возделыванию находится 85 сортов яровой мягкой пшеницы. На территории Западной Сибири ограничена сумма активных положительных температур, в связи с этим предпочтение отдается раннеспелым и среднеранним сортам с замедленным развитием до начала колошения и ускоренной генеративной фазой. Для сортов Западной Сибири характерно сочетание в генотипе позднеспелости по фотопериодической чувствительности и скороспелости по типу развития. В настоящий момент в Западно-

Сибирском регионе возделывают более 30 сортов ([Приложение 1](#)). Алтайский край занимает первое место в Западно-Сибирском регионе по посевным площадям яровой мягкой пшеницы, основные сорта — Метелица, Зимушка, Новосибирская 2, Новосибирская 3, Обская озимая, Новосибирская 51. Второе место занимает Новосибирская область, основные сорта — Скипетр (56 %), Новосибирская 3 (12 %), Новосибирская 51 (8 %), Рядовая — (6 %). В Омской области основные сорта — Омская озимая, Омская 4 и Омская 5.

1.2 Систематическая принадлежность и краткая история изучения возбудителей ржавчины пшеницы

Возбудители ржавчинных болезней злаков принадлежат к порядку грибов Pucciniales (ранее порядок Uredinales), которые являются частью царства Fungi, отдела Basidiomycota, подотдела Pucciniomycotina, класса Pucciniomycetes (Margulis, Chapman, 2009). Порядок Pucciniales составляет 1/3 грибов отдела Basidiomycota и, по оценкам, насчитывает около 8000 видов из 125 родов, из которых р. *Puccinia* представляет собой самый крупный род отдела (Alexopoulos et al., 1996; Aime et al., 2017), включающий три вида гриба ржавчины зерновых культур, влияющих на производство пшеницы во всем мире (*P. graminis* Pers. — возбудитель стеблевой ржавчины злаков; *P. triticina* Erik. — возбудитель бурой ржавчины пшеницы; *P. striiformis* West. — возбудитель жёлтой ржавчины злаков).

С момента освоения человеком сельского хозяйства началось изучение болезней растений и их возбудителей. При возделывании злаковых культур человек столкнулся с их разнообразными заболеваниями, влекущими за собой значительные потери урожая. Самые ранние археологические свидетельства присутствия спор ржавчины датированы эпохой неолита, споры были обнаружены в районе зарождения земледелия и первого возделывания зерновых культур человеком в Ярмо, Ирак (Stewart, Robertson, 1968).

Первые сообщения о ржавчинных болезнях появляются как упоминания об эпифитотиях зерновых культур в христианской Библии в Ветхом Завете: «*Будет ли на земле голод, будет ли моровая язва, будет палящий ветер, ржавчина, саранча, червь...*» (3-я книга Царств 8 глава 37 стих), а также в греческой и римской литературе

(McIntosh et al., 1995). Такие философы как Аристотель (384–322 до н. э.) и Плиний (23–79 н. э.) упоминают в своих работах о ржавчине хлебных злаков и её массовых вспышках; Теофраст (около 372–287 до н. э.) пишет о ржавчине в своей книге «Исследование о растениях»: «Хлебные растения подвержены ржавчине больше, чем бобовые, при этом ячмень больше, чем пшеница, и одни сорта его больше, чем другие... На местах ветреных и высоких ржавчина бывает редко или не бывает вовсе; она страшна для котловин или мест безветренных. Появляется она преимущественно в полнолуние» (Дьяков, 2016, с. 8). Философы связывали вспышки ржавчины на полях с условиями окружающей среды, такими как роса и солнечный свет (Chester, 1946). В своей статье Kislev (1982) сообщил об обнаружении в двух полевых записях сведений о ржавчине на пшенице, найденной в сосуде при археологических раскопках в Израиле и датированной к позднему бронзовому веку (около 1300 г. до н.э.).

Усилия по противодействию ржавчине восходят к римским временам (с 700 г. до н.э.), примером может служить фестиваль, который проводился ежегодно 23 апреля (перед началом посева пшеницы), вплоть до первых веков христианства, под названием Робигалия (Robigalia), в честь бога ржавчины Робигуса, для предотвращения потерь зерна из-за заражения ржавчиной (Roelfs, 1982). В этот день проводилось жертвоприношение, богу Робигусу преподносили рыжую собаку и ягненка с просьбой сохранить колосья пшеницы от ржавчины.

Значительно позднее, начиная со второй половины 16 века, люди проследили связь между ржавчиной на зерновых культурах и кустарниками барбариса (р. *Berberis*), что привело к первой известной попытке законодательным путем облегчить положение с болезнями растений. В 1660 году в Руане, на севере Франции, приняли закон, в котором говорилось о необходимости искоренить кусты барбариса, так как уже было окончательно доказано, что вблизи них количество ржавчины и её вредоносность особенно велики. В Северной Америке, в период колонизации, в штатах Коннектикут в 1726 году, Массачусетсе в 1755 году и в Род-Айленде в 1766 и 1772 годах были изданы законы об уничтожении кустарников барбариса.

Два первых независимых научных доклада о пшеничной ржавчине были сделаны Тарджиони Тоццетти (1767) и Фонтана (1767) на следующий год после

эпифитотии ржавчины в Италии в 1766 году, в которых сообщалось, что ржавчина распространилась по всей территории страны (Schafer, 1984).

Несмотря на раннее признание возбудителя стеблевой ржавчины как серьезной угрозы для зерновых культур, род *Puccinia* был впервые определен только в 18 веке (Micheli, 1729). Вид *P. graminis* был описан позже Персоном из зараженной пшеницы, в 1797 году (McAlpine, 1906).

Эмпирическая связь между возбудителем стеблевой ржавчины и барбарисом была признана еще в 17 веке, но сложность жизненного цикла гриба продолжала таить загадку до тех пор, пока эксперименты немецкого миколога Генриха Антон Де Бари в 1865 году не открыли у ржавчины макроциклический жизненный цикл и двух растений-хозяев, а также то, что *Aecidium berberidis* и *P. graminis* были одним и тем же видом (Дьяков, 1995).

1.3 Внутривидовая дифференциация гриба *Puccinia graminis*

1.3.1 Специальные формы

Для вида *P. graminis* предложено деление на группы, не имеющие таксономического статуса: «forma specialis» и «subspecies», что связано с дивергенцией в отношении растений-хозяев и вариабельностью морфологии спор среди представителей вида (Eriksson, 1894; Cummins, 1971; Waterhouse, 1951). На данный момент имеется две сосуществующие таксономические системы классификации вида *P. graminis*. Первая система основана на морфологии спор, она делит вид на два таксономических подвида (subsp. — «subspecies»), *graminis* и *graminicola* (Cummins, 1971; Urban, 1967). Подвид *P. graminis* subsp. *graminis* Z. Urb поражает в первую очередь злаковые культуры и близкородственные роды, тогда как *P. graminis* subsp. *graminicola* Z. Urb поражает в основном дикорастущие злаковые растения. Урбан также делит типовые подвиды на две разновидности, а именно: *P. graminis* subsp. *graminis* var. *graminis* (поражает роды *Triticum*, *Aegilops* и *Elymus*) и *P. graminis* subsp. *graminis* var. *stakmannii* (поражает роды *Avena*, *Hordeum* и *Secale*). Вторая система классифицирует *P. graminis* в соответствии с приуроченностью к разным растениям-хозяевам и разделяет виды по специальным формам (f. sp. — «forma specialis»), поражающим строго определенные рода культурных и дикорастущих злаковых растений (Anikster, 1984; Savile, 1984). При этом в работах по

гибридизации специальных форм гриба показана нескрещиваемость пшеничной и ржаной формы, пшеничной и овсяной формы (Leonard, Szabo, 2005).

Возникновение специальных форм внутри вида патогена обусловлено снижением видового разнообразия злаковых растений внутри агроценозов. Данные формы могут быть морфологически идентичны, но различаться в зависимости от того, какие виды растений они способны инфицировать. Специальные формы ржавчины приспособились и эволюционировали с соответствующими им хозяевами, что привело к их генетической дифференциации. Механизмами образования внутривидовых единиц и генетической дифференциации внутри специальной формы у ржавчинных грибов служат множество факторов, например, соматические мутации, перенос генов, гибридизация на альтернативном хозяине, а также гетерокариоз или соматическая рекомбинация ядер на стадии урединиоспор (Park, 2007; Singh et al., 2015; Park, Wellings, 2012). Таким образом, гриб *P. graminis* является примером вида, проходящего процесс микроэволюции с дивергенцией по хозяину

Международный кодекс ботанической номенклатуры (International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants) признает таксономическую единицу «forma specialis» для описания разновидности ржавчины. Концепцию номенклатуры впервые использовали для *P. striiformis* в Европе Эрикссон и Хеннинг в 1894 году (Wellings, 1986). После проведения экспериментов по инокуляции с различными линиями *P. graminis* на разных хозяевах было определено несколько специальных форм, а именно: *P. graminis* f. sp. *tritici*, *P. graminis* f. sp. *avenae* и *P. graminis* f. sp. *secalis* и ряд соответствующих им хозяев (Eriksson, 1898; Anikster, 1984).

Концепция специальных форм была подтверждена молекулярными маркерами, связанными с полиморфизмом ДНК гриба. Было доказано, что вид *P. graminis* является монофилетическим, он имеет несколько групп, которые филогенетически сходны друг с другом (Abbasi et al., 2005; Berlin et al., 2012). Так, использование области внутреннего транскрибируемого спейсера (internal transcribed spacer, ITS) рибосомальных генов в качестве маркера позволило обнаружить присутствие овсяной и пшеничной формы возбудителя стеблевой ржавчины среди эциоспор развивающегося на барбарисе полового поколения спор (Berlin et al., 2012).

Выяснено, что гриб *P. graminis* f. sp. *tritici* способен в природных ценозах и при искусственном заражении в лабораториях поражать ряд дикорастущих злаковых трав. Кроме этого, гриб инфицирует более 70 видов *Berberis* spp. и небольшое количество видов из рода *Mahonia* (например, *Mahonia aquifolium*), служащих альтернативными хозяевами, на которых развиваются пикниоспоры и эциоспоры *P. graminis* f. sp. *tritici* и *P. striiformis* f. sp. *tritici* (Mendgen, 1983; Cummins 1971; Anikster, Wahl 1979). Точно также виды *Thalictrum* spp. являются альтернативными хозяевами для *P. triticina* на пшенице (Anikster et al., 1997).

1.3.2 Физиологические расы

Кроме специализированных форм возбудитель ржавчины дифференцируется на физиологические расы, так называемые патотипы или вирулентные фенотипы, которые могут быть определены внутри вида или специальной формы. Физиологическая раса является условной таксономической единицей специализации возбудителей болезней растений, которая описывается по способности штаммов гриба поражать или не поражать определенные сорта растений-хозяев. Основополагающий принцип расоспецифической резистентности растений объясняется концепцией «ген на ген», установленной Флором (Flor, 1971; Ellis et al., 2014) для льна и его возбудителя ржавчины *Melampsora line* L., который утверждает, что ген устойчивости (*R*) у растений придает устойчивость к штаммам патогенов, несущим соответствующий ген авирулентности (*Avr*).

Для описания рас используются такие понятия как «агрессивность» и «вирулентность». «Агрессивность» — количественная характеристика патогена, отражающая его способность к стремительному развитию за счет короткого латентного периода и экспрессивному проявлению видимых симптомов инфекции на растении (Чикин, 2001). Агрессивные расы возбудителя ржавчинных грибов способны образовывать последующие поколения урединиоспор на 5–6 день после инокуляции; при этом стандартным латентным периодом до проявления симптомов считается срок 10–14 дней (Periyannan et al., 2013).

«Вирулентность» является качественной характеристикой патогенной расы и описывается составом генов вирулентности (*vr*). Механизмы, приводящие к вирулентности у гриба, включают полную делецию, инактивацию или подавление генов

Avr, или точечные мутации, позволяющие избежать узнавания защитными рецепторами клеток, кодируемых генами устойчивости пшеницы *R* (Resistance) — в общем случае, и *Sr* (Stem rust) — по отношению к возбудителю стеблевой ржавчины (Jones, Dangl, 2006; Guttman et al., 2014, Чикин, 2001). Именно на определении генов вирулентности *P. graminis* построен принцип описания или выделения физиологических рас. Кроме того, расы с наибольшим числом генов вирулентности способен «обходить» защитные механизмы большего числа сортов злаковых культур, получая преимущества при неблагоприятных условиях для проявления свойства агрессивности.

Первый разработанный метод по дифференциации рас принадлежит Stakman и соавторам (1962). Он основан на описании типа реакций у определенного набора пшеничных сортов дифференциаторов на заражение патогеном. В этот набор входили сорта пшеницы: Little Club, Marquis с генами *Sr5*, *Sr7b*, *Sr18*, *Sr19*, *Sr20*; Reliance с генами *Sr5*, *Sr16*, *Sr18*, *Sr20*; Kota с генами *Sr7b*, *Sr18*, *Sr19*, *Sr28*; Arnautka с генами *Sr9a*, *Sr9d*; Mindum с генами *Sr9a*, *Sr9b*, *Sr9d*, Spelmar с генами *Sr9a*, *Sr9b*, *Sr9d*; Kubanka с генами *Sr9c*, *Sr9g*; Acme с генами *Sr9d*, *Sr9g*; Einkorn с геном *Sr21*; Vernal с геном *Sr9e*; Khapli с генами *Sr7a*, *Sr13*, *Sr14*. В ряде случаев, уменьшение количества дифференциальных сортов пшеницы до 6 (Marquis, Reliance, Kota, Arnautka, Kubanka и Einkorn) приводило к одинаковым результатам анализа разных рас. Позднее появились аналогичные системы дифференциации, которые были разработаны в Канаде (Green, 1981), Австралии (Watson, Luig, 1963), и модифицирован набор Стекмана в США (Roelfs, Martens, 1988). На основе данного ключа в 1988 году американские фитопатологи Рольфс и Мартенс разработали уже целостную международную систему дифференциации рас *P. graminis* f. sp. *tritici* — «*Pgt differential set*» (Roelfs, Martens, 1988), состоящую из 12 линий-дифференциаторов пшеницы. Они включили в свою систему дифференциаторов три набора изогенных *Sr*-линий. Первый набор содержит гены *Sr5*, *Sr21*, *Sr9e*, *Sr7b*; второй: *Sr11*, *Sr6*, *Sr8a*, *Sr9g*; и третий: *Sr36*, *Sr9b*, *Sr30*, *Sr17*. Позже Roelfs с соавторами (1993) включили в эту систему четвертый дополнительный набор изогенных линий пшеницы, содержащий *Sr9a*, *Sr9d*, *Sr10* и *SrTmp*, для более детальной классификации популяции возбудителя стеблевой ржавчины. В 2008 году Jin с соавторами (2008) обнаружили, что данный дифференциальный набор не может идентифицировать вирулентность к *Sr31* у расы Ug99. В связи с этим пересмотрена существующая система идентификации рас *P. graminis* f. sp. *tritici*, что привело к включению дополнительных четырех линий с

генами *Sr24*, *Sr31*, *Sr38* и *SrMcN* в качестве пятого набора (Jin et al., 2008). Таким образом, в настоящий момент международный набор представлен 20 изогенными *Sr*-линиями пшеницы (табл. 1), содержащими по одному определённом гену устойчивости (*Sr*), дифференцирующими расами по составу соответствующих генов вирулентности.

Таблица 1. Международный североамериканский набор тестерных линий пшеницы (*Pgt differential set*)

Группа	Ген <i>Sr</i>	Изогенная <i>Sr</i> -линия пшеницы	Родословная
1 ^a	5	ISr5-Ra CI 14159	Thatcher/Chinese Spring
	21	<i>T. monococtum</i> /8*LMPG-6 DK13	Einkorn CI 2433
	9e	Vernstein PI 442914	Little Club//3* Gabo/2* Charter/3/3* Steinwedel/CI 7778
	7b	ISr7b-Ra CI 14165	Hope/Chinese Spring
2 ^a	11	Yalta PI 155433	Kenya C6402/Pusa4//Dundee
	6	ISr6-Ra CI 14163	Red Egyptian/Chinese Spring
	8a	Mentana W1124 PI 221154	Rieti/Wilhelmina//Akagomughi
	9g	Acme CI 5284	Selection from Kubanka (CI 1516)
3 ^a	36	W2691SrTt-1 CI 17385	CI 12632 <i>T. timopheevii</i>
	9b	Prelude*4/2/Marquis*6/Kenya 117A	Kenya 117A
	30	Festiguay W2706 PI 330957	Festival/Uruguay C10837
	17	Prelude/8*Marquis*2/2/Esp 518/9	Esp 518/9
4 ^b	9a	ISr9a-Ra CI 14169	Red Egyptian/Chinese Spring
	9d	ISr9d-Ra CI 14177	Hope/Chinese Spring
	10	W2691Sr10 CI 17388	Marquis*4/Egypt NA95/2/2*W2691
	<i>Tmp</i>	CnsSrTmp	Triumph 64 (CI 13679)/Chinese Spring
5 ^b	24	LcSr24Ag	Little Club/Agent (CI 13523)
	31	Kavkaz/Federation4	Kavkaz
	38	Trident	Spear*4/VPM (PI 519303)
	<i>McN</i>	McNair 701 (CI 15288)	Неизвестно

Примечание: (Roelfs, Martens, 1988)^a; (Roelfs et al., 1993)^b; (Jin et al., 2008)^b.

При дальнейших исследованиях выяснилось, что расы состоят из более мелких единиц — подрас, или биотипов (Стэкман, Харрар, 1959). Биотип представляет собой популяцию генетически однородных клонов. Потомство одной споры гриба, образовавшейся клональным путем, представляет собой биотип, но только в том случае, если не было мутаций, порождающих генетическую разнородность в дикариотичном мицелии гриба. Однако биотипы не имеют прикладного значения, сравнимого с физиологической расой. Монопустульный изолят (*single pustule isolate*) или просто изолят — является широко употребляемым термином в литературе, посвященной исследованию ржавчинных грибов. По своему происхождению он соответствует биотипу, то есть

является потомством одной споры гриба, но полученный в искусственных условиях. Монопустульный изолят технически представляет собой чистую линию гриба-биотрофа.

1.3.3 Расовый состав популяций *P. graminis* f. sp. *tritici*

Популяции *P. graminis* f. sp. *tritici* неоднородны, их состав сильно варьирует в регионах распространения. Описание популяций ведется по двум основным признакам: наличие или отсутствие полового размножения в популяции (половая/бесполая популяция) и расовый состав.

Важнейшей эпидемиологической задачей является установление способа размножения патогена: реализуется ли в данной популяции полный жизненный цикл (половая популяция) или же популяция представлена исключительно поколениями урединиоспор, размножающихся бесполом путем на культурном злаке (бесполая популяция).

В условиях различных природных фитоценозов гриб *P. graminis* имеет как полный цикл развития, объединяющий половой и бесполой процессы, так и сокращенный, без полового процесса. Преимущества полного жизненного цикла заключаются в том, что патогенная популяция приобретает высокую пластичность, так как половой процесс, протекающий на барбарисе, обеспечивает огромное разнообразие генотипов, а во время вегетативного цикла наиболее устойчивые и агрессивные расы проходят отбор условиями среды. Сокращенный жизненный цикл представлен бесполом поколениями урединиоспор и реализуется только в условиях, где нет необходимости перезимовывать при низких температурах. Это приводит, с одной стороны, к уменьшению разнообразия в популяции, но, с другой стороны, к ускоренному отбору рас, способных переживать понижение температуры и продолжать рост в виде урединиоспор, минуя стадию зимних телиоспор, защищенных от низких температур утолщенной клеточной стенкой. Таким образом, частота генов вирулентности и расовый состав отличаются между патогенными популяциями, развивающимися по схемам полного и сокращенного жизненного цикла.

В странах Южной Америки, на севере Африки, в Центральной Азии возбудитель стеблевой ржавчины проходит через полный жизненный цикл на барбарисе или магонии и представлен в виде половых популяций (Roelfs, 1992). В США была предпринята централизованная попытка снизить вирулентность популяций возбудителя стеблевой

ржавчины, уменьшив разнообразие генотипов путем уничтожения посадок барбариса на Великих Равнинах (Great Plains), что было сделано в 1928 году, что значительно снизило частоту эпифитотий возбудителя стеблевой ржавчины. Также барбарис отсутствует на материковой части Австралии, вероятно потому, что этот вид не был завезен на континент. Тем не менее, исследователи микроэволюции австралийских популяций *P. graminis* f. sp. *tritici* отмечают вариабельность клональных линий вплоть до появления новых вирулентных рас и преодоления важных для производства пшеницы генов устойчивости (Park, 2007).

Что касается России, информация о прохождении *P. graminis* f. sp. *tritici* полового цикла имеется для Северного Кавказа, где широко распространен барбарис (Смирнова, 1968). Другие данные, приведенные для СССР, свидетельствуют о том, что, несмотря на некоторое распространение посадок барбариса в регионах возделывания пшеницы, как Среднее и Нижнее Поволжье, его роль в формировании популяции *P. graminis* f. sp. *tritici* была показана как незначительная. Полный жизненный цикл реализуется грибом преимущественно для специальных форм, не способных заражать пшеницу. Ежегодно под растениями барбариса с весенними эциальными спороношениями исследователи отмечают появление симптомов поражения дикорастущих злаков и зимующей телиостадии. Кроме того, посадки барбариса не обнаружены в местах ежегодного развития возбудителя стеблевой ржавчины (Фридрихсон, 1937; Лекомцева, Волкова, 1970).

До настоящего времени природа популяций *P. graminis* f. sp. *tritici* в Западной Сибири была не выяснена. В регионе присутствуют посадки барбариса, но их роль в формировании локальной популяции *P. graminis* f. sp. *tritici* ещё не изучалась. В связи со способностью урединиоспор распространяться с ветром на большие расстояния (Nagarajan et al., 1976), велика вероятность заноса инокулюма из южных регионов, возделывающих пшеницу: Казахстана и Алтая.

На территории России изучение расового состава популяции *P. graminis* f. sp. *tritici* активно началось с середины и продолжалось до конца 20 века. Первая попытка провести анализ популяции *P. graminis* f. sp. *tritici* была сделана Барменковым (Барменков, 1939). Им было описано 9 рас *P. graminis* f. sp. *tritici*, два (раса 40 и 116) из которых имели

наибольшее распространение. Расы 40 и 116 были авирулентные/вирулентные к сортам пшеницы с генами *Sr21*, *Sr7a/Sr6*, *Sr10*, *Sr11*, *Sr9a*, *Sr9b* и *Sr9e*.

Работы по выявлению рас популяции *P. graminis* f. sp. *tritici* в России возобновились только через двадцатилетний перерыв. В период с 1961 по 1963 год в СССР было выявлено 16 рас *P. graminis* f. sp. *tritici* (Пассади́на, 1965). Раса 21 имела наибольшее распространение в стране и составлял около 50 % суммарной популяции *P. graminis* f. sp. *tritici* в СССР. Однако он имел низкую частоту вирулентности: авирулентность/вирулентность к сортам пшеницы с генами *Sr5*, *Sr21*, *Sr7a*, *Sr9e*, *Sr6*, *Sr10*, *Sr11*, *Sr9a* и *Sr9b*.

Отдельное внимание было уделено мало распространенным, но высокоагрессивным расам к группе районированных сортов пшеницы (расы 11, 15, 40 и 116), что дало основание предполагать, что вскоре они могут доминировать на производственных посевах. Позже данное предположение было подтверждено в ряде исследований: к концу 70-х годов расы 11, 15, 40 (авирулентные/вирулентные к сортам пшеницы с генами *Sr7a/Sr5*, *Sr6*, *Sr10*, *Sr11*, *Sr9a*, *Sr9b*, *Sr9e*, *Sr21*) являлись наиболее распространёнными в некоторых регионах СССР (Волкова, 1978).

Резюмируя данные по расовому составу популяции *P. graminis* f. sp. *tritici* в СССР за период с 1930 по 1970 год, можно сделать вывод об относительно стабильном составе рас географических популяций *P. graminis* f. sp. *tritici*. Это связано с возделыванием в основных районах не способных оказать селективное влияние на генетический состав действующей инфекции *P. graminis* f. sp. *tritici* сортов пшеницы со средней восприимчивостью к стеблевой ржавчине (Коновалова, 1975).

В Западной Сибири целенаправленная работа по анализу популяции *P. graminis* f. sp. *tritici* практически только началась. В условиях лаборатории GRRC (Global Rust Reference Center, Дания) описан текущий состав рас в популяции *P. graminis* f. sp. *tritici* на территории Омской области и Алтайского края (Shamanin et al., 2019), и он представлен большим разнообразием высоковирулентных рас. Работы по исследованию фенотипов вирулентности популяции возбудителя стеблевой ржавчины на территории северной лесостепи Приобья, принадлежащей Новосибирской области, к настоящему моменту не проводились. Однако *P. graminis* f. sp. *tritici* в фитопатогенном

комплексе пшеницы, занимающей более 1 млн га в Новосибирской области, отмечается регулярно, а в 2010, 2011 и 2016 годах зафиксированы крупные вспышки инфекции (Сочалова, Лихенко, 2015; Skolotneva et al., 2016).

Гены устойчивости районированных сортов пшеницы играют важную роль в отборе рас *P. graminis* f. sp. *tritici* и формировании локальных устойчивых популяций. Одним из факторов изменения расового состава популяции *P. graminis* f. sp. *tritici* в регионе может являться введение и распространение новых сортов пшеницы (Johnson, 1953; Stakman, Harrar, 1958). Так, на территории Австралии, где до 1945 года на полях возделывали одинаковые сорта пшеницы, была обнаружена взаимосвязь появления новых рас *P. graminis* f. sp. *tritici* с высеванием новых, не используемых ранее, сортов пшеницы с другим набором генов устойчивости. Обнаруженные расы не получили распространения в Новой Зеландии, где эти сорта не возделывались (Watson, Luig, 1968).

Кроме этого, дополнительным фактором, влияющим на качественное и количественное соотношение рас *P. graminis* f. sp. *tritici* в популяциях, остаются дикорастущие злаковые травы. Обладая неспецифической устойчивостью, они являются резерваторами и переносчиками инфекции в неблагоприятные для развития болезни годы (Leonard, Szabo, 2005; Skolotneva et al., 2013). Однако их значение для формирования структуры популяции *P. graminis* f. sp. *tritici* в современных условиях Западной Сибири остается неясным.

В популяциях *P. graminis* f. sp. *tritici*, в которых преобладает большое число рас, в течение вегетационного периода доминирует, как правило, только часть из них. Так, например, в популяции *P. graminis* f. sp. *tritici* Канады в 2006 году было обнаружено четыре основные расы, при этом доминирующая была только одна (Fetch et al., 2015).

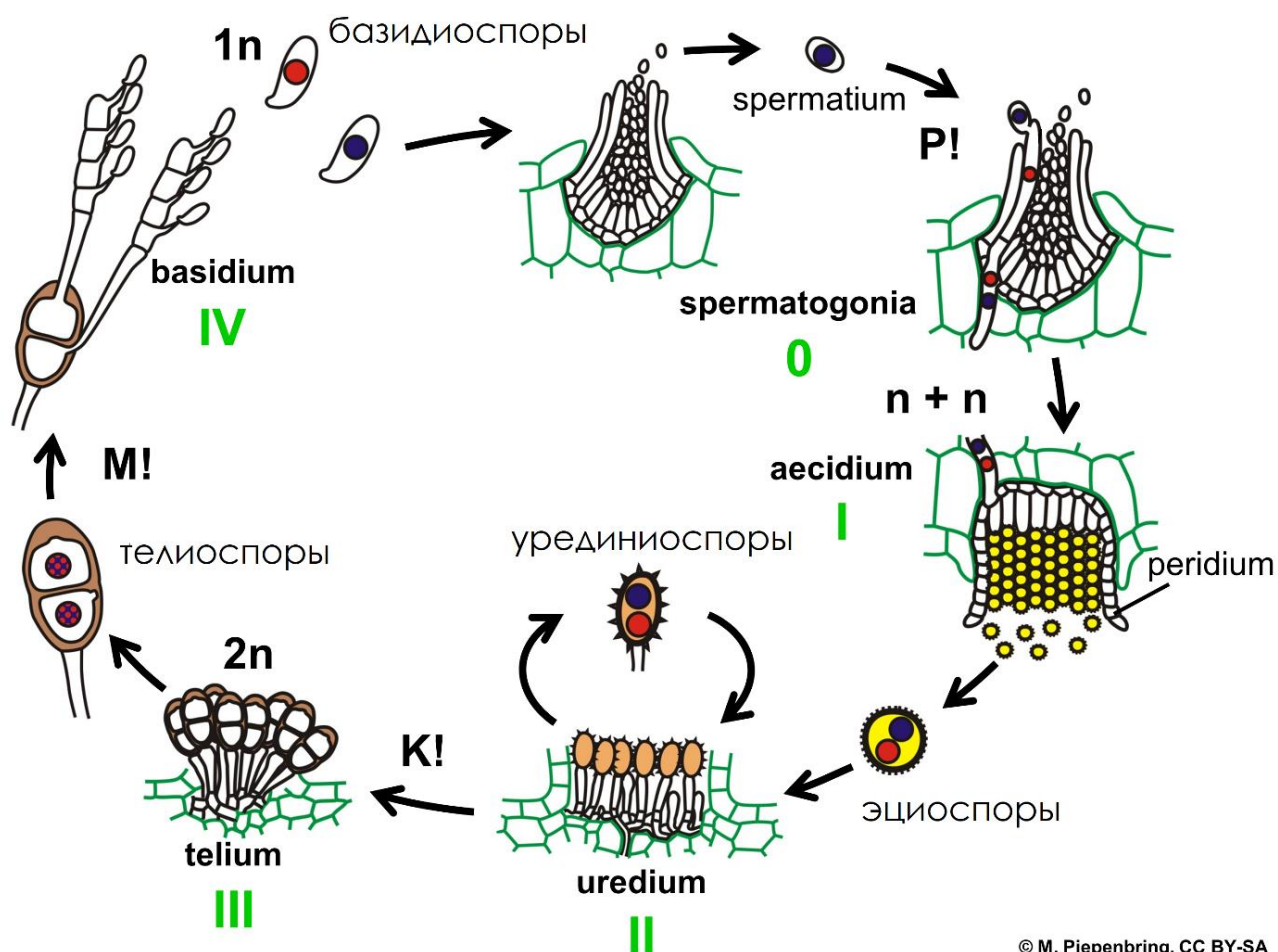
В системе формирования локальных популяций немалая роль отводится абиотическим факторам среды. В популяциях *P. graminis* f. sp. *tritici* одного и того же региона осуществляется смена доминантных рас в разные вегетационные сезоны при отсутствии изменений в составе районированных сортов. Так, например, в Канаде с 1950 по 1960 год наблюдалось смещение численного соотношения рас 15 и 56 в сторону доминирования одной из них при изменении температурных условий (Katsuya, Green, 1967). В расовом составе популяции Центрального региона России в период с 2001 по

2005 год наблюдалась смена доминантных рас: М-расы МКВТ, МКЛТ и МКВР были замещены Т-расами ТКНТ, ТТНТ, ТКСТ, ТКНТФ, это было связано с повышением относительных температур сезона вегетации пшеницы (Skolotneva et al., 2013).

1.4 Биологические особенности *P. graminis*

1.4.1 Жизненный цикл гриба

P. graminis — биотрофный фитопатоген, получающий питательные вещества от живого растения, на котором он размножается. Полный жизненный цикл *P. graminis* f. sp. *tritici* макроциклический, он включает в себя пять типов спор (урединиоспоры, телиоспоры, базидиоспоры, пикниоспоры и эциоспоры) с последовательной сменой полового и бесполого размножения, при этом самую продолжительную по времени часть жизненного цикла занимает споровое состояние (Roelfs, 1992; Kolmer et al., 2009) (рис. 1). *P. graminis* — двудомный патоген, нуждается в двух различных хозяевах для завершения жизненного цикла. Бесполое размножение проходит на злаковых хозяевах, таких как пшеница (р. *Triticum* L.) и ячмень (р. *Hordeum* L.), и другие, а половая стадия — на альтернативных хозяевах, таких как вид *Mahonia* spp. и вид *Berberis* spp. (Leonard, Szabo, 2005; Jin, 2011). Стоит обратить внимание, что альтернативные хозяева отдаленно связаны с пшеницей и ячменем. *Mahonia* spp. и *Berberis* spp. классифицируются как двудольные виды и принадлежат к семейству Berberidaceae Juss. (Loconte, Estes, 1989), тогда как пшеница и ячмень являются однодольными растениями из семейства Poaceae Barnhart (Soreng et al., 2015). Из этого следует, что эволюция *P. graminis* f. sp. *tritici* довольно специфическая, поскольку гриб может инфицировать совершенно разные виды.



© M. Piepenbring, CC BY-SA

Рисунок 1. Цикл развития возбудителя стеблевой ржавчины *P. graminis* (адаптировано с M. Piepenbring). Стадии жизненного цикла гриба отмечены римскими цифрами. Условные обозначения: K! — кариогамия (karyogamy); P! — плазмогамия (plasmogamy); M! — мейоз (meiosis).

Гриб на протяжении всей бесполой стадии жизненного цикла существует как дикариотический организм, где в каждой клетке находятся два различных гаплоидных ядра с полным набором хромосом в каждом из ядер ($n + n$). Однако во время половой стадии жизненного цикла *P. graminis* f. sp. *tritici* существует как монокариотический гаплоидный организм (n) в период после мейоза и до начала полового размножения (Leonard, Szabo, 2005). Бесполой стадией жизненного цикла *P. graminis* f. sp. *tritici* начинается в тот момент, когда дикариотические эциоспоры ($n + n$), образующиеся после полового размножения на барбарисе, заражают растения пшеницы. Впоследствии пустулы (урединии) прорастают из эпидермиса листьев пшеницы и высвобождают миллионы дикариотических урединиоспор ($n + n$).

Урединиоспоры

Урединиоспоры — имеют ярко-рыжий цвет за счет содержания капель окрашенных масел (пигмента липохрома), они имеют небольшой вес, по форме споры овальные, продолговатые, около $26\text{--}40 \times 16\text{--}32$ мкм.

Переносятся ветром на сотни километров в жизнеспособном состоянии и способны заражать злаковые растения на разных стадиях развития (Luig, 1977; Visser et al. 2019). Способность урединиоспор распространяться на большие расстояния была впервые показана в исследованиях, проведенных в 1920-х и 1930-х годах с использованием самолетов с установленными приборами по улавливанию спор на больших высотах. Во время эпифитотии ржавчины в Манитобе в 1930 году Peturson B. определил около 16000 пойманных спор на квадратный метр на высоте $\sim 4,5$ км (Gregory, 1945). Конечная скорость (скорость, с которой падает объект) урединиоспор в неподвижном воздухе колеблется от 0.94 до 1.25 см/с, увеличиваясь с уменьшением относительной влажности и температуры (Ukkelberg, 1933; Weinhold, 1955). Споры могут оседать из воздуха под действием силы тяжести или от ударов о предметы, но наиболее эффективно оседают посредством дождевых капель.

Урединиоспора, попавшая на поверхность листа или стебля растения, прорастает устьицу гифой, которая образует аппрессорий для проникновения в мезофилл и развития эндوفитного мицелия. Разрастаясь в межклеточном пространстве растения, гифы внедряются в клетки хозяина с помощью гаусторий — специализированных видоизменений мицелия. Развиваясь в течение 7–10 дней, гриб образует на стебле порошащую пустулу, содержащую от 50 до 400 тысяч новых урединиоспор (Katsuya, Green, 1967; Mont, 1970). За вегетационный период растения одна спора способна дать 6–7 поколений урединиоспор, если растение будет заражено не обильно и останется жизнеспособным (Шаманин и др., 2015). Таким образом, при 5 % заражении (50 пустул на побег) образуется около 10 000 урединиоспор, масса спор с гектара может составить приблизительно 5 килограммов (Rowell, Roelfs, 1971).

Первые симптомы инфекции обычно становятся видимыми через 5–6 дней после заражения и проявляются в виде светлого пятна ромбовидной формы (хлороз). Размер уредопустул и требуемое время для их развития определяются генетикой устойчивости

растения-хозяина, агрессивностью возбудителя, инфекционной нагрузкой и абиотическими факторами, в особенности, температурным и световым режимом.

Оптимальная температура для прорастания урединиоспор около 18 °С. Образование аппрессория может происходить в темноте, однако для дальнейшего развития требуется солнечный свет. Во время световой фазы для оптимального развития температура должна постепенно повышаться от 18 °С до 30 °С вместе со снижением влажности. Споруляция обычно начинается на 7–14 день; латентные периоды от 14 до 20 или 30 дней встречаются в полевых условиях ранней весной. В нормальных полевых условиях цикл развития уредопустул повторяется через каждые 14–21 день. Из-за различных условий окружающей среды в поле новые очаги инфекции появляются почти ежедневно, таким образом, поколения перекрываются и, как правило, неразличимы.

Большинство образованных урединиоспор осаждаются в пределах поля и в 100 м от него (Roelfs, 1972). Споры относительно устойчивы к повреждению от температуры (0–40 °С) и могут выдерживать экстремумы в течение коротких периодов времени. Они остаются жизнеспособными при комнатной температуре в течение нескольких недель. Жизнеспособность урединиоспор быстро уменьшается при воздействии высокой относительной влажности (более 80 %), а увеличивается при относительной влажности 20–30 %.

Если альтернативный хозяин (барбарис) отсутствует, *P. graminis* f. sp. *tritici* может размножаться исключительно клональным путем, продуцируя урединиоспоры на пшенице продолжительное время, не завершая половую репродуктивную фазу (Agrios, 1997; Leonard, Szabo, 2005).

Телиоспоры

К концу вегетационного периода злаковых растений под влиянием низких температур в ночное и утреннее время уредопустулы становятся телиями, и в них развиваются крупные двухклеточные телиоспоры с утолщенной клеточной стенкой. Телиоспоры — имеют черно-бурый цвет, продолговатые по форме, дикариотические, размер около 40–60 × 16–23 мкм. Споры остаются прикрепленными к стеблю на протяжении относительно низких температур; устойчивы к экстремальным воздействиям окружающей среды (Cotter, 1932).

Телиоспоры являются зимующей стадией гриба на территории, где климат выражен сезонностью, с отрицательными зимними температурами. Жизнеспособность телиоспор уменьшается при высоких температурах, особенно, если это сопровождается засухой, и варьируется в зависимости от генотипов хозяина и патогена. Транспортировка телиоспор обычно осуществляется человеком при перемещении зараженной соломы пшеницы или ржи. Зимние споры прорастают после периода стратификации: чередующегося замораживания и оттаивания, сушки и смачивания. Однако в лабораторных условиях телиоспоры прорастают нерегулярно.

Весной в телиоспорах происходит кариогамия: гаплоидные ядра дикариона сливаются и на короткое время образуется диплоидная клетка ($2n$). Телиоспора является единственной диплоидной стадией жизни гриба. Далее телиоспора подвергается мейозу с образованием зиготы, которая прорастает четырёхклеточной базидией (фрагмобазидия). Базидия формирует на своей поверхности гаплоидные базидиоспоры. Жизненный цикл замыкается (Roelfs, Bushnell, 1985).

Телиоспоры прорастают базидиями с базидиоспорами через 20–25 минут после увлажнения, но известны случаи задержки развития жизнеспособных телиоспор до 3–6 дней и более (Craigie, 1940; Cotter, 1932).

Базидиоспоры

Базидиоспоры — имеют небольшие размеры, 7.6×6 мкм, тело споры прозрачное, овальной формы. Базидиоспоры образуются на стеригме на каждой клетке базидиума. По мере созревания споры активно распространяются на несколько сантиметров от стеригмы (Buller, 1958). Базидиоспоры переносятся ветром на листья альтернативных хозяев не более чем на 180–270 метров от источника. Базидиоспоры недолговечны, сохраняют свою жизнеспособность всего в течение нескольких часов. Поэтому они быстро прорастают зародышевой трубкой с концевым аппрессорием, видоизменением мицелия, служащим для активного проникновения через клеточную стенку эпидермиса. Инфекция возникает по большей части на верхней поверхности листьев барбариса, хотя возможна на ягодах, стеблях и других поверхностях альтернативного хозяина. Листья барбариса восприимчивы к поражению в течение двух-трех недель после раскрытия листовой почки, что связано с толщиной защитного кутинового слоя. Таким образом, в условиях

умеренного климата успешное заражение альтернативного хозяина базидиоспорами происходит с конца мая по начало июня.

Пикноспоры

Примерно через 5 дней после заражения альтернативного хозяина (барбариса) базидиоспорами признаки развития пикний становятся видимыми (Cotter, 1932). Через 7–14 дней после заражения маленькие, 1.6×3.6 мкм, гаплоидные, одноклеточные пикноспоры выделяются с вязкой жидкостью, которая образуется в остиоли (открытое отверстие в пикниде). Пикниоспоры обозначаются половыми знаками «+» или «-», мужские и женские гаметы, соответственно (Roelfs, 1992; Kolmer et al., 2009). Пикниоспора функционирует как гамета и сливается с восприимчивой гифой, выполняющей роль другой гаметы. С помощью дождя, росы или насекомых, которых привлекает сладкий нектар, пикниоспоры одного полового знака могут перенестись на восприимчивые гифы пикний другого полового знака, происходит плазмोगамия (Roelfs, 1992; Kolmer et al., 2009), что приводит к развитию эция обычно на нижней поверхности листа альтернативного хозяина.

Эциоспоры

После дикариотизации на нижней поверхности листа барбариса в течение 7–10 дней после оплодотворения восприимчивых гиф развивается эцидий. Эциоспоры представляют собой продукты рекомбинации при половом процессе. Изменчивость по вирулентности эциоспор была впервые показана Уотерхаузом (1929). Эциоспоры располагаются в эцидии в виде цепочек (Roelfs, 1992; Kolmer et al., 2009); эциоспоры из одной цепочки обычно генетически отличаются от эциоспор из другой цепочки в пределах одного эцидия. Эциоспоры — дикариотические ($n + n$), цилиндрические, $16\text{--}23 \times 15\text{--}19$ мкм и достаточно легкие, чтобы перемещаться на большие расстояния в воздушных потоках. Оптимальная температура для их прорастания составляет $22\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Novotelnova, 1935). За время развития эцидия производится большое количество спор: от 2.3 до 8 миллионов на один лист барбариса с несколькими эцидиями. Эциоспоры были найдены на высотах до 2 км над уровнем моря (Stakman, Harrar, 1957). Степень инфекции наиболее сильно выражена в нескольких метрах от источника инокулюма. Эциоспоры могут вызывать очаги болезни в радиусе до 100 метров, и, возможно, способны мигрировать на те же расстояния, что урединоспоры (сотни километров).

1.4.2 Процесс инфицирования растения-хозяина

Заражение пшеницы грибом-патогеном *P. graminis* f. sp. *tritici* начинается в момент попадания урединиоспоры на поверхность листовой пластинки пшеницы, следом активируется процесс прорастания споры с образованием зародышевых трубок (Leonard, Szabo, 2005). Зародышевые трубки разрастаются на поверхности листа, руководствуясь топографическими сигналами (тигмотропизмом), и дифференцируют свою структуру в аппрессорий, когда сталкиваются с высокоспециализированным образованием эпидермиса растений — устьищем. Аппрессорий образует проникающий гиф, который проходит между замыкающими клетками (*cellulae claudentes*) устьиц. Впоследствии внутри полости листа дифференцируется подустьичная везикула. Гифы расходятся от этого пузырька и растут межклеточно в апопласте растения. При контакте с клетками мезофилла гифы дифференцируются в гаусториальные клетки, которые образуют орган питания, известный как гаустория, для извлечения питательных веществ из клеток растений. Гаустория проникает через стенку растительной клетки и инвагинирует в плазматическую мембрану растения. Несмотря на то, что гаустория развивается внутри живой клетки-хозяина, она остается отделенной от цитоплазмы растений через сложную границу хозяин–гаустория (Garnica et al., 2014). Известные компоненты поглощения питательных веществ гаусториями ржавчины по-прежнему ограничены несколькими переносчиками сахаров и аминокислот (Voegelé, Mendgen, 2011; Struck, 2015). У ржавчинных грибов отсутствует несколько основных путей питания (например, ассимиляция нитратов и серы), что в значительной степени объясняет их зависимость от поглощения питательных веществ их хозяевами (Duplessis et al., 2011; Kemen et al., 2015). Гаустория является не только специализированным механизмом для переправки питательных веществ, но и местом интенсивной экспрессии секретируемых белков, включая эффекторы (Duplessis et al., 2012; Garnica et al., 2014).

1.4.3 Влияние абиотических факторов на развитие *P. graminis*

Факторы окружающей среды, такие как: наличие / отсутствие освещения, уровень CO₂ и степень водного стресса — могут влиять на процесс заражения и развития *P. graminis* (Yirgou, Caldwell, 1963; Burrage, 1970). Ранее считалось, что успех инфицирования зависит от света, поскольку воздействие света способствует открытию устьиц (Hart, 1929). Однако недавнее исследование, основанное на микроскопии,

показало, что в случае *P. graminis* инфицирование не зависит от света (Solanki et al., 2019). Процесс заражения в природе эффективнее идет в сумерках и ночное время при повышенной влажности и сниженном тургоре устьичных клеток. Эти условия воссоздают и в лаборатории при искусственной инокуляции растений споровыми навесками. Напротив, межклеточное развитие патогена, разветвление и формирование гаусторий напрямую зависят от присутствия света (Solanki et al., 2019).

Абиотические факторы влияют на проявление инфекции сопряженно. Повышенная температура в сочетании с высоким уровнем освещенности действуют в направлении повышения инфекционного типа (ITs, infection types) (Johnson, 1953). Свет необходим для развития мицелия, при этом в первые часы после заражения он оказывает отрицательное действие на прорастание спор (Brown, Shipton, 1964; Цадокс, 1970). Возбудитель стеблевой ржавчины развивается при освещенности 5000–10000 люкс (Stakman, Harrar, 1958). При этом в условиях искусственного культивирования ржавчины необходимо 15000 люкс, что может быть связано с различным спектральным составом света, влияющим на проявление инфекции (Rowell et al., 1958; Санин, Кайдаш, 1973).

Наиболее значимым фактором развития *P. graminis* является влажность. Оптимальное условие для прорастания урединиоспор, телиоспор и эциоспор — стопроцентная относительная влажность (Lambert, 1929; Наумов, 1939; Цадокс, 1970; Турапин, 1971). Влажная весенняя погода с высокими температурами (17–23 °C) приводит к наиболее быстрому распространению ржавчины (Harvey, 1964). При развитии инфекции в полевых условиях имеет значение характер осадков: наиболее благоприятны частые дожди и обильная роса в утренние часы, что приводит к перезаражению растений и интенсивному накоплению инокулюма (Lambert, 1929; Peltier, 1933; Наумов, 1939; Степанов, 1962).

Для прорастания урединиоспор необходима температура 2 °C, 15–24 °C и 30 °C (минимальная, оптимальная и максимальная) совместно с высокой влажностью в течение одного-трех часов при низкой интенсивности света (Roelfs, 1992). Для успешного проникновения патогена в организм хозяина требуется температура 15 °C, 29 °C и 35 °C (минимальная, оптимальная и максимальная) при высокой интенсивности света и свободной воде (Roelfs, 1992). Рост и развитие патогена идет при температуре 5 °C, 30 °C и 40 °C (минимальная, оптимальная и максимальная) при высокой интенсивности света,

но в свободной воде нет необходимости (Roelfs, 1992). Споруляция патогена проходит при температуре 15 °С, 30°С и 40 °С (минимальная, оптимальная и максимальная) при высокой интенсивности света, но свободная вода для споруляции не нужна (Roelfs, 1992). Споры могут оставаться жизнеспособными в течение длительного времени, но теряют свою жизнеспособность при влажности, превышающей 50 % (Roelfs, 1992).

Наибольшее значение инфекция имеет в южных областях мира в связи с требовательностью к высоким температурам. Болезнь распространена в Мексике, южных штатах США, странах Южной Америки, Австралии, на севере Африки, в Иране, Ираке, Турции, Узбекистане, Казахстане и др. На территории Российской Федерации заболевание отличается высокой вредоносностью на Дальнем Востоке, на Северном Кавказе и в Поволжье (Азбукина, 1974; Сибикеев и др., 2011; Волкова и др., 2018).

В силу климатических особенностей Западной Сибири возбудитель стеблевой ржавчины долгое время не имел экономического значения в регионе. Однако после эпифитотийного развития на производственных посевах пшеницы в Омске в 2009 году (Шаманин и др., 2015) *P. graminis* стал отмечаться регулярно в фитопатогенном комплексе пшеницы различных областей Западной Сибири (табл. 2).

Таблица 2. Крупные вспышки возбудителя стеблевой ржавчины *P. graminis* в Западной Сибири в период 2007–2016 гг.

Год	Область	Ссылки
2007	Новосибирская	Сочалова, Лихенко, 2015
2010		
2011		
2014	Омская	Шаманин и др., 2015
2016	Новосибирская	Сколотнева, Салина, 2016

На территории лесостепи Приобья, входящей в состав Новосибирской области, крупные вспышки возбудителя стеблевой ржавчины были зарегистрированы в 2007, 2010, 2011, 2016 годах (Шаманин и др., 2015; Сочалова, Лихенко, 2015; Сколотнева, Салина, 2016). В монографии Шаманина с соавторами (2015) приведены данные длительных метеорологических наблюдений в Омском регионе (Омская ГМС, 1971–2013 гг.) и описана тенденция к потеплению климата в Западной Сибири. Так, на протяжении 43 лет среднесуточная температура воздуха второй декады мая медленно повышалась на уровне достоверного среднего значения ($r = 0.3$) (Шаманин и др., 2015). Благодаря устойчивым положительным температурам мая у возбудителя стеблевой ржавчины появилась

возможность использовать озимые сорта пшеницы как «зеленый мост» для перехода на посевы яровой пшеницы и накопления высокого уровня инфекционной массы. Таким образом, повышение температуры воздуха может играть определенную роль в появлении инфекции в регионе и достижении ею эпифитотийного уровня.

1.4.4 Роль барбариса в формировании популяции гриба в условиях лесостепи

Приобья

Ржавчинные грибы являлись изначально паразитами двудольных растений, при этом половое и бесполое размножение предполагаемого предка *P. graminis* протекало на кустарнике барбариса. Злаковые травы как постоянный компонент растительного сообщества, окружающего кусты барбариса, стали удобным хозяином для осуществления грибом короткой трофической колонизации и многократного воспроизведения массы спор в результате бесполого процесса. Таким образом, эволюция жизненного цикла гриба шла по пути разделения инфекционных стадий, осуществляющих половой и бесполой процессы (Leppik, 1961). Для современного возбудителя стеблевой ржавчины злаков растения рода *Berberis* являются альтернативными хозяевами. Самыми распространенными источниками инфекции в лесостепи Приобья являются *B. vulgaris* и *B. purpurea* (Сколотнева, Салина, 2016).

Для выяснения роли барбариса в условиях лесостепи Приобья в 2016 году сотрудниками ИЦиГ СО РАН был проведен анализ на вирулентность собранных с барбариса образцов эциоспор по методике CDL (USDA-ARS Cereal Disease Laboratory, США) на различных культурных злаках: восприимчивых сортах пшеницы, ржи, овса, ячменя (Сколотнева, Салина, 2016). Поражения растений возбудителем стеблевой ржавчины не наблюдалось. Однако в результате обследования растительных сообществ вокруг посадок барбариса удалось обнаружить симптомы развития *P. graminis* на пырее (в. *Elytrigia repens*) и еже сборной (в. *Dactylis glomerata*). Таким образом, было сделано предварительное заключение о том, что гриб, собранный с барбариса в Новосибирской области, относится к специализированной форме, инфицирующей дикорастущие, а не культурные злаки. Кроме того, в этот год было выявлено хронологическое несоответствие наблюдаемых в природе симптомов: интенсивное спороношение на стеблях озимых сортов пшеницы в середине июня совпало с начальными этапами развития эцидиальной стадии на барбарисе, произрастающего в непосредственной близости от поля с

пораженной пшеницей. Поэтому было высказано предположение, что структура популяции *P. graminis* f. sp. *tritici* в лесостепи Приобья формируется за счет заноса инфекции из других регионов (Сколотнева, Салина, 2016).

1.5 Генетические основы вирулентности *P. graminis*

Особый интерес при изучении возбудителя стеблевой ржавчины представляют генетические основы вирулентности гриба. Попадая на растение, даже при благоприятных условиях, патоген далеко не всегда начинает формировать мицелий. Для характеристики различных рас гриба, так же как для штаммов вирусов, используется понятие вирулентности, то есть способности данного патогена инфицировать тот или иной организм. Защитная реакция несовместимости растения-хозяина и гриба-патогена является результатом встречи продуктов, кодируемых геном устойчивости растения (*Sr*) и соответствующим геном авирулентности (*Avr*) гриба в соответствии с законом взаимодействия Flor (1971) «ген на ген». В урединиостадии (инфекционная стадия возбудителя стеблевой ржавчины, поражающей злаки) клетки гриба представлены в виде дикариона, который ведет себя как диплоидная гетерозигота, за исключением редких случаев выключения из экспрессии генетического материала одного из ядер. Встреча хозяина и патогена будет заканчиваться реакцией устойчивости при следующих генных комбинациях: *Sr+Avr/Avr*, *Sr+Avr/vr*. Реакция восприимчивости будет результатом взаимодействия *Sr+vr/vr* (вирулентный статус патогена определяется в гомозиготном состоянии). Основоположник учения об иммунитете растений Николай Иванович Вавилов выдвигал идею о том, что иммунитет растений возник эволюционно в центрах происхождения различных групп растений в результате постоянного инфицирования патогеном (Вавилов, 1935). Растения, выработавшие устойчивость к расе патогена, распространенной в регионе, выживали и оставляли иммунное потомство. В ответ на появление таких растений в патогенной популяции проходит естественный отбор на мутации, связанные с генами вирулентности, и таким образом, снова приобретает способность заражать устойчивые ранее сорта. Такой процесс сопряженной эволюции паразита и хозяина был назван процессом коэволюции (Жуковский, 1971). Результатом коэволюции является возникновение и сохранение устойчивых форм растения-хозяина, несмотря на то, что паразит образует новые, более вирулентные, расы и биотипы.

Успешное заражение зависит от конститутивного свойства растений препятствовать внедрению патогена и его развитию в тканях растения-хозяина (van Schie, Takken, 2014). Патоген должен проникнуть в среду хозяина, преодолевая заранее сформированные препятствия растений, включая как физические, так и химические барьеры (Freeman, Beattie, 2008). Примерами такой защиты у злаков могут служить восковой налет, препятствующий прорастанию споры, а также малый размер и степень сомкнутости устьиц. Если патоген успешно проник в растение, то будущее его развитие и размножение в организме хозяина зависят от вмешательства иммунной системы растений. Индуцируемые защитные механизмы активируются при распознавании патогена через иммунные рецепторы растений, расположенные в разных местах растительной клетки (Dodds, Rathjen, 2010).

Иммунитет растений можно разделить на две ветви в зависимости от характера распознавания патогенов. Первая ветвь распознавания включает паттерн-распознающие рецепторы (pattern-recognition receptors — PRR), такие как рецептор-подобные киназы (receptor-like kinases — RLK). Эти рецепторы могут распознавать высококонсервативные молекулы патогенов, называемые патоген-ассоциированными молекулярными структурами (pathogen associated molecular patterns — PAMP), например, хитин в клеточных стенках грибов. PRR локализованы в плазматической мембране растительной клетки, и поэтому PAMP распознаются внеклеточно. Впоследствии узнавание этих молекул активирует внутриклеточный каскад защитных сигнальных сетей, что приводит к стимуляции PAMP врожденным PTI-иммунитетом (PAMPs-triggered immunity — PTI) (Dodds, Rathjen, 2010). Однако специализированные патогены выработали механизмы, способные преодолевать PTI-иммунитет посредством секреции эффекторных белков/молекул в цитоплазму растений. Эффекторы действуют как манипуляторы для изменения структур хозяина или защитных сигналов, чтобы поддерживать вирулентность и приспособленность патогенов (Jones, Dangl, 2006; Dodds, Rathjen, 2010). Во многих патосистемах некоторые эффекторы, известные также как Avr-белки, распознаются внутриклеточными нуклеотид-связывающими лейцин-богатыми белками (NLR — nucleotide-binding leucine-rich repeat receptor, или R-белки) (Dodds, Rathjen, 2010). Это распознавание активирует иммунитет, запускаемый эффектором (ETI — effector-triggered immunity), который составляет вторую ветвь иммунитета растений (Ayliffe et al., 2010;

Dodds, Rathjen, 2010). На сегодняшний день известно, что конкретная физиологическая раса ржавчины генетически детерминирована репертуаром отдельных эффекторов, кодируемых его геномом, и (R) генами хозяина, и NLR, которые распознают эти эффекторы (Dodds, Rathjen, 2010; Figueroa et al., 2016).

Эффекторы, которые не распознаются рецепторами NLR в растении, определяют совместимость и круг хозяев патогена. Эти молекулярные взаимодействия являются основой коэволюционной «гонки вооружений» между растениями и патогенами (Jones, Dangl, 2006). Известно, что ржавчинные грибы кодируют сотни эффекторов (Upadhyaya et al., 2015; Figueroa et al., 2016). В отличие от бактериальных систем, информация об идентичности и функциях белков-эффекторов ржавчины практически отсутствует (Toruño et al., 2016). Из модельной системы ржавчины льна стало известно (в. *Melampsora lini*), что эффекторы секретируются из гаусторий ржавчины и распространяются в клетке растений по еще неизвестному механизму (Garnica et al., 2014). Известно, что защитные реакции, связанные с эффектором ETI-системы, запускаются прямым взаимодействием белков NLR льна и соответствующих белков Avr из *M. lini* (т.е. L6, L7 и Avr567) (Dodds et al., 2006). Как показано на примере гриба возбудителя ржавчины льна гены, кодирующие эффекторы, очень полиморфны и часто демонстрируют признаки диверсифицирующего отбора (Figueroa et al., 2016). Считается, что прямое взаимодействие эффекторов с белками NLR приводит к сильному дивергентному отбору, управляющее к изменениям в последовательностях ДНК, которые позволяют эффекторам избегать узнавания (Dodds et al., 2006). Однако не все патогенные белки Avr обнаруживаются посредством направленных взаимодействий. «Гипотеза охранника» («guard hypothesis») и «гипотеза приманки» («decoy hypothesis») являются примерами моделей косвенного распознавания между эффекторами и белками NLR (DeYoung, Innes, 2006; Cesari et al., 2018). Хотя доказательств косвенного распознавания эффекторов у ржавчинных грибов пока не выявлено, известно, что этот процесс происходит в других патосистемах. Возможно, будущие исследования в области биологии ржавчины найдут доказательства косвенного распознавания эффекторов.

Белки-эффекторы кодируются в геноме гриба генами авирулентности (Avr), а белковые рецепторы являются продуктами мажорных R генов хозяина, или специфических генов устойчивости, обозначающихся в случае возбудителя стеблевой

ржавчины символом *Sr* (stem rust). Специфическая защитная реакция растения-хозяина реализуется только при выполнении генного соответствия *Sr* и *Avr*, так называемого закона «ген-на-ген» взаимодействия хозяина и патогена (Flor, 1971). Идентификация генов *Avr* и характеристика аллельной изменчивости в этих локусах имеет решающее значение для принятия обоснованных решений по селекции и в разработке новых стратегий для использования генов устойчивости *R*.

Адаптация и распространение новых рас патогена определяются во многом ускоренной эволюцией генов *Avr*, приводящей к модификации соответствующих белков, которая предотвращает их распознавание рецепторами растений. Так, для генов авирулентности возбудителя ржавчины льна характерна высокая степень полиморфизма: известно 12 вариантов гена *AvrL567* с различающимся составом радикалов на поверхности эффекторных белков, которые с разной эффективностью взаимодействуют с рецептором (Wang et al., 2007). Частным случаем полиморфизма является появление рецессивного аллеля *avr=vr*, то есть гена вирулентности, который в гомозиготном состоянии обеспечивает патогену способность преодолевать специфическую защиту гена устойчивости (Catanzariti et. al., 2006). На фоне колоссального разнообразия кандидатов на гены эффекторных белков у ржавчинных грибов (до 1500 по данным геномных и транскриптомных исследований Figueroa et al., 2016), универсальный метод для идентификации *Avr* генов на настоящий момент не сформирован. Один из подходов позволил идентифицировать 42 гена-кандидата в составе референсной геномной последовательности *P. graminis* f. sp. *tritici* (изолят CDL 75–36–700–3) по таким структурным критериям, как секретируемый тип белка, его обогащение цистеином и малый размер молекулы (Ellis et al., 2007, Sperschneider et al., 2014). Поскольку изучение первичной структуры и локализации генов *Avr* возбудителя стеблевой ржавчины находится на начальных этапах, в практике широко используются эмпирические методы идентификации соответствующих им генов расоспецифической устойчивости пшеницы, совмещающие фитопатологическое тестирование и молекулярное маркирование генов *Sr*.

1.6 Молекулярно-генетические методы изучения ржавчинных грибов

Методы, основанные на анализе нуклеиновых кислот, могут дать более полную информацию о генетическом разнообразии патогена по сравнению с анализом вирулентного состава и цитологическими исследованиями морфологии инфекционных

структур. В некоторых случаях, только использование молекулярных методов позволяет провести достоверную идентификацию вида или внутривидового таксона. Так, процедура установления специальной формы у изолятов *P. graminis*, выделенных с различных растений-хозяев, помимо анализа вирулентности требует определения первичной структуры транскрибируемого спейсера рибосомальных генов (ITS — internal transcribed spacer) и её сравнения с данными GenBank (Berlin et al., 2012).

Среди разнообразия молекулярных техник при работе с популяциями фитопатогенных грибов в настоящее время используют молекулярные маркеры, основанные на полиморфизме ДНК: вариабельность микросателлитных повторов (SSR-маркеры) и однонуклеотидные полиморфизмы (SNP-маркеры).

Микросателлитные маркеры

SSR-маркеры (simple sequence repeat), или микросателлиты, — участки ДНК, состоящие из тандемов повторяющихся единиц, присутствуют как в кодирующих, так и в некодирующих частях генома. Среди существующих фрагментных анализов генома данный тип кодоминантных ДНК маркеров наиболее применим для характеристики генетической изменчивости фитопатогенных популяций в связи с высоким уровнем их внутривидового полиморфизма (Szabo, Kolmer, 2007). Применение SSR-маркеров для изучения географических популяций возбудителя бурой ржавчины *P. triticina*, распространенных на территории Северной и Южной Америки, позволило оценить степень разнообразия между ними и установить источник происхождения инфекции и пути миграции спор патогена между и внутри континентов (Ordoñez et al., 2010). Охарактеризовать зависимость распределения популяций *P. triticina* в Европе от генотипического разнообразия сортов пшеницы также удалось с помощью SSR-маркеров (Kolmer et al., 2013).

SSR-генотипирование популяций *P. graminis* f. sp. *tritici* было ранее успешно использовано шведскими исследователями для изучения популяций возбудителя стеблевой ржавчины, паразитирующих на овсе и ржи (Berlin et al. 2012). Преимущество использования SSR-маркеров в дикариотическом организме (которым является *P. graminis* в стадии урединиоспоры, инфекционной для растений пшеницы) обусловлено тем, что SSR-маркеры являются кодоминантными и могут обнаруживать аллели обоих

ядер. SSR-генотипирование позволяет анализировать большое количество образцов и обнаружить различия в пределах одного вида или близкородственных видов.

В России микросателлитные маркеры к настоящему моменту не применялись для изучения популяций *P. graminis*, но уже показали свое прикладное значение на примере возбудителя бурой ржавчины злаков. Гулятьевой (2015) был проведен обширный анализ образцов географических популяций *P. triticina* из девяти регионов России (Северо-Кавказского, Северо-Западного, Центрального, Центральнo-Черноземного, Западно-Сибирского, Уральского, Нижневолжского, Средневолжского и Волго-Вятского). Был сделан вывод о существовании на территории Российской Федерации трех преобладающих популяций возбудителя бурой ржавчины: западноазиатской, европейской и северокавказской.

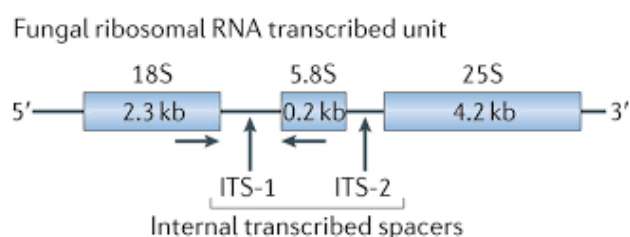
Однонуклеотидные полиморфизмы ДНК

SNP — однонуклеотидные полиморфизмы ДНК (single nucleotide polymorphism) — молекулярно-генетические маркеры, разрешающая способность которых превышает SSR-маркеры. Оптимально подобранные для объекта SNP-маркеры позволяют характеризовать индивидуальную изменчивость и используются для построения филогенетических деревьев на основе дивергенции гомологичных участков ДНК. Так, SNP-анализ изолятов *P. triticina* показал относительно недавнее расхождение на два кластера, по предпочтению, мягкой и твердой пшеницы (Liu et al., 2014). С помощью SNP-чипа было показано, что расы *P. graminis*, выделенные с образцов пораженной пшеницы в Германии (2013) и сходные с агрессивным североафриканским патотипом Ug99 по вирулентности на сортах-дифференциаторах, генетически не идентичны Ug99 (Newcomb et al., 2016).

ДНК-баркодинг

Методы молекулярной идентификации становятся основными инструментами в таксономии грибов, в связи с чем этот подход широко применим во многих областях микологии (Yahr et al., 2016). Для работы с ржавчинными грибами прибегают к методике — ДНК-баркодингу: секвенированию специфических участков генома и сопоставлению с нуклеотидной последовательностью вида, загруженного в GenBank Database (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) (Berlin et al., 2012; Stielow et al., 2015; Lücking et al., 2020).

Общепотребимые маркеры по определению видовой принадлежности основаны на использовании области внутреннего транскрибируемого спейсера ITS (Internal transcribed spacer) рибосомальной ДНК (рДНК) (рис. 2). Эта область рибосомных генов имеет сложную организацию, представлена транскрибируемыми кодирующими и некодирующими участками, степень консервативности которых различна. Анализ нуклеотидной последовательности транскрибируемых, но не кодирующих РНК участков, расположенных внутри рибосомного оперона, позволяет установить индивидуальную принадлежность возбудителей ржавчины к виду и к специальной форме (Berlin et al., 2012).



Nature Reviews | Immunology

Рисунок 2. Схема расположения внутренних транскрибируемых спейсеров в рибосомном опероне грибов (ITS — Internal Transcribed Spacer) (по Underhill, Iliev 2014).

В тех случаях, когда ITS маркеры не обеспечивают достаточного разрешения среди близкородственных видов/подвидов, то используются вторичные маркеры штрихкодирования, представленные в таблице 3.

Таблица 3. Маркеры для идентификации ДНК ржавчинных грибов

ДНК-баркодинг маркер	Акроним	Ссылки
Internal transcribed spacer	ITS	Berlin et al., 2012; Stielow et al., 2015
β -tubulin II	<i>TUB2</i>	Stielow et al., 2015
Translation elongation factor 1 alpha	<i>TEF1</i>	
hypothetical protein	<i>LNS2</i>	
DNA topoisomerase I	<i>TOP1</i>	
DNA-directed RNA polymerase II subunit B	<i>RPB2</i>	Větrovský et al., 2016

1.7 Генетическая защита пшеницы к возбудителю стеблевой ржавчины: идентификация и характеристика генов устойчивости *Sr*

В последние годы мировым научным сообществом были получены сведения о первичной структуре генов расоспецифической устойчивости *Sr* и их точной локализации

в геноме мягкой пшеницы. В частности, в рамках международных программ по борьбе с распространением агрессивной расе Ug99 проведено картирование эффективных генов *Sr21* (Chen et al., 2015), *SrTmp* (Briggs et al., 2015), *Sr50* (Mago et al., 2015), а также определена первичная структура гена *Sr35* (Saintenac et al., 2013). Недавно картированы гены *Sr57* (Krattinger et al., 2009), *Sr33* (Periyannan et al., 2013) и *Sr55* (Moore et al., 2015), *Sr60* (Chen et al., 2018), которые обуславливают неспецифическую устойчивость против широкого спектра рас патогена. Такая устойчивость, как правило, является продолжительной из-за щадящих механизмов защиты, которые не оказывают селективного эффекта на вирулентную структуру популяции патогена. Гены неспецифической устойчивости, в отличие от расоспецифических генов, не кодируют NB-LRR рецепторы. Их продуктами могут быть различные транспортные белки: АТФ-транспортер (*Sr57*), транспортер гексоз (*Sr55*), а также классы гомеодоменсодержащих белков: HD-ZIP-белков (HD-ZIP — homeodomain-leucine zipper), которые являются специфическими транскрипционными факторами растений, регулируемыми разнообразными процессами дифференцировки тканей (Ding et al., 2017).

Современные исследования, касающиеся проблемы устойчивости мягкой яровой пшеницы к возбудителю стеблевой ржавчины, ведутся по двум основным направлениям: (1) оценка коллекций мягкой пшеницы на устойчивость к заболеванию с помощью молекулярных маркеров к известным генам устойчивости в дополнение к полевому скринингу материала и лабораторным тестам к образцам различных популяций гриба и (2) поиск источников новых генов устойчивости и генных локусов, в том числе среди культурных и дикорастущих сородичей пшеницы. Для достижения адекватного генетического контроля заболевания важен интегральный подход, привлекающий как данные об источниках устойчивости, так и актуальные сведения о действующих в регионе патогенных популяциях, их расовом составе и динамике генов вирулентности.

Выявление источников или доноров устойчивости является повсеместной задачей. В результате скрининга коллекций яровой мягкой пшеницы в Индии (Sharma et al., 2015) и Эфиопии (Soresa, 2018) были получены сходные результаты: доля устойчивых генотипов к местному возбудителю стеблевой ржавчины, а также к Ug99, в коллекциях оказалась минимальной. В России работа по созданию исходного материала и сортов с устойчивостью к возбудителю стеблевой ржавчины успешно ведется научным коллективом под руководством д.б.н. Лапочкиной И.Ф. в Федеральном

Исследовательском центре «Немчиновка» (Московская область) совместно с Всероссийским научно-исследовательским институтом защиты растений (Санкт-Петербург, Пушкин). В ФГБУ «Центр сельскохозяйственных исследований Донской» (ФГБУН «АРК «Донской») проведена объемная работа по генотипированию коллекции, состоящей из 620 сортов озимой мягкой пшеницы, собранных из различных эколого-географических зон. В результате исследования были идентифицированы группы устойчивых образцов, несущие гены *Sr2*, *Sr31*, *Sr38* и *Sr44* в различных комбинациях. Самая многочисленная группа сортов несет эффективный ген устойчивости к возбудителю стеблевой ржавчины *Sr44* (Alabushev et al., 2019). На базе исходного материала, выделенного из коллекции генетических ресурсов растений ВИР и коллекции «Арсенал», созданы линии озимой пшеницы, устойчивые к возбудителю стеблевой ржавчины в условиях Нечерноземной зоны Российской Федерации. Значительные результаты по генотипированию сортов яровой мягкой пшеницы, а также интрогрессивных линий с генетическим материалом от чужеродных видов (*Aegilops speltoides*, *Ae. elongatum*, *Ae. triuncialis*, *Secale cereale*) селекции НИИ сельского хозяйства Юго-Востока получены канд. биол. наук Барановой О.А. У исследуемых интрогрессивных линий постулированы гены *Sr31/Lr26*, *Sr25/Lr19*, *Sr28*, *Sr57/Lr34* и *Sr38/Lr37*. Сочетание генов *Sr31/Lr26* + *Sr25/Lr19* идентифицировано у 26.3 % линий и сортов, возделываемых на территории Поволжья (Baranova et al., 2019).

С 2007–2009 годов значение возбудителя стеблевой ржавчины в фитопатогенном комплексе пшеницы Западной Сибири возросло (Сочалова, Лихенко, 2015). Исследование культивируемых на территории Западной Сибири сортов мягкой пшеницы показало, что большинство из них являются восприимчивыми к заболеванию, а остальные защищены небольшим количеством генов устойчивости *Sr25*, *Sr31*, *Sr36*, *Sr6Ai#2* (Shamanin et al., 2016; Leonova et al., 2020). При этом оценка коллекции яровой мягкой пшеницы Омского Государственного Аграрного Университета на естественном инфекционном фоне лесостепи Западной Сибири выявила, что только 10 % сортов коллекции являются устойчивыми по отношению к местному патогену. Проведенный в условиях Кении скрининг коллекции к расе Ug99 показал, что доля устойчивых к агрессивной расе сортов также не превышает 10 % (Шаманин и др., 2015). Таким образом, выявление и характеристика новых источников устойчивости к возбудителю стеблевой

ржавчины среди коллекций сортов и линий яровой мягкой пшеницы, адаптированных для произрастания в Западно-Сибирском регионе России, является актуальной проблемой.

1.7.1 Идентификация генов *Sr* в сортах пшеницы с использованием фитопатологического тестирования

До разработки первых молекулярных маркеров присутствие в селекционном материале генов устойчивости определяли эмпирически с помощью фитопатологического постулирования в соответствии с законом «ген на ген» взаимодействия хозяина и патогена (Flor, 1947). Суть постулата заключается в том, что каждому гену устойчивости или восприимчивости растения-хозяина соответствует определенный комплементарный ген авирулентности или вирулентности паразита. К использованию фитопатологического тестирования прибегают до сих пор как к необходимому подходу, позволяющему верифицировать молекулярные маркеры. Кроме того, данный подход остается единственным методом в случае идентификации генов, для которых ДНК маркеры не разработаны. Обязательным условием проведения фитопатологического тестирования селекционного материала является поддержание в лаборатории рабочей коллекции монопустульных изолятов, обладающих противоположными аллелями генов *Avr*, в данном случае, изолятов *P. graminis* f. sp. *tritici*, вирулентных и авирулентных к искомому гену устойчивости *Sr*. При этом исследование проводят на ювенильной стадии растений, оценивая и сравнивая реакции (инфекционные типы — ITs, infection types) на заражение системами изолятов гриба (McVey, Roelfs, 1975). Проявление высокой восприимчивости инфекционные типы 3 и 4 по балльной шкале, разработанной Stakman et al. (1962) у тестируемой линии свидетельствует об отсутствии в генотипе генов устойчивости, к которым изолят *P. graminis* авирулентен. Так, восприимчивый тип реакции на заражение изолятом, авирулентным к *Sr5*, говорит, что тестируемая линия не несет гена *Sr5*. Присутствие гена было бы сопряжено с устойчивостью (инфекционные типы 0, 1 и 2). Необходимо учитывать подготовительный этап подбора контрольных изолятов или рас *P. graminis* с определенной вирулентностью. Их используют для того, чтобы: 1) исключить присутствие гена устойчивости *Sr* у исследуемого сорта, если сорт восприимчив хотя бы к одной расе, авирулентному к гену; 2) предположить наличие гена на основании совпадения реакции совместимости рас с изучаемым сортом, имеющим ген устойчивости. Такое определение тем точнее, чем реже

в популяции паразита встречаются расы, вирулентные к изучаемому сорту. Методы закладки опытов и заражения проростков пшеницы возбудителем стеблевой ржавчины, в том числе уход за опытными растениями, и оптимальный температурно-временной режим в период проведения экспериментов подробно описаны в разных публикациях (Roelfs, 1992; Jin et al., 2007; Li et al., 2016; Flath et al., 2018). Пример индентификации генов устойчивости к возбудителю стеблевой ржавчины пшеницы представлен в таблице 4.

Таблица 4. Модель постулирования гена устойчивости к возбудителю стеблевой ржавчины пшеницы (по Roelfs, 1992)

Тестируемая линия	Гены <i>Sr</i>	Изоляты патогена			
		1	2	3	4
Контрольная линия					
ISr6-Ra	6	;	;	4	4
ISr8-Ra	8a	2	2	2	4
L-E	отсутствует	4	4	4	4
Тестируемая линия					
L-1	?	;	;	4	4
L-2	?	2	4	2–	4
L-3	?	4	4	4	4
L-4	?	;	;	2	4
L-5	?	0	3+	1N	4

Примечание: линия ISr6-Ra несет ген *Sr6*; линия ISr8-Ra несет ген *Sr8a*; линия L-E не имеет генов *Sr*; линии L-1–L-5 — тестируемые линии. Символы: (;), (2), (2–), (4) являются инфекционными типами возбудителя стеблевой ржавчины по шкале Стекмана (Stakman et al., 1962).

Исходя из результатов оценки восприимчивости образцов, можно сделать следующие выводы о присутствии генов *Sr* у тестируемых линий. Линия L-1, вероятно, содержит ген *Sr6*, тип заражения аналогичен контрольной линии ISr6-Ra. Линия L-2, по-видимому, содержит ген *Sr8a*, тип заражения аналогичен контрольной линии ISr8-Ra. Линия L-3 проявляет восприимчивый тип реакции ко всем изолятам, что позволяет предположить отсутствие генов *Sr6* и *Sr8a*. Сравнение типов реакции линии 4 с контрольными образцами позволяет заключить, что она может содержать ген *Sr6* (тип реакции на изоляты 1 и 2) и ген *Sr8a* (изолят 3). Здесь необходимо обратить внимание, что из-за эпистаза показан низкий тип заражения для изолята 1, это ген *Sr6*. Линия L-5 обладает устойчивостью, к тому же отсутствует значение с низким типом заражения, что связано с экспрессией генов *Sr6* и *Sr8a*. Для двух последних линий нельзя сделать окончательный вывод, так как, возможно, присутствуют оба гена устойчивости.

Выявленный эмпирическим путем ген устойчивости должен обязательно быть подтвержден дополнительными исследованиями, такими как генетический и/или цитогенетический анализы. В настоящее время использование молекулярных маркеров стало прекрасной альтернативой, позволяющей сократить время анализа с помощью оптимизированных протоколов.

1.8 Краткое заключение по главе 1

Обобщая известную информацию по возбудителю стеблевой ржавчины пшеницы, можно сказать, что патоген напрямую угрожает крупнейшему региону России по возделыванию яровой мягкой пшеницы — Западной Сибири. Гриб остается одним из самых агрессивных патогенов зерновых культур, способных вызывать крупные потери урожая мягкой и твердой пшеницы, ячменя и тритикале. Долгое время распространение и развитие инфекции *P. graminis* f. sp. *tritici* успешно контролировалось с помощью программ селекции на устойчивость. Однако в последние годы доля стеблевой ржавчины в фитопатогенном комплексе пшеницы ощутимо возросла в большинстве сельскохозяйственных регионов России и мира. Стоит помнить, что генетика устойчивости районированных сортов пшеницы играет важную роль в отборе рас *P. graminis* f. sp. *tritici* и формировании локальных резистентных популяций. Одним из факторов изменения расового состава популяции *P. graminis* f. sp. *tritici* в регионе может являться введение и распространение новых сортов пшеницы. В силу климатических особенностей Западной Сибири возбудитель стеблевой ржавчины долгое время не имел экономического значения в регионе. Ситуация изменилась после эпифитотийного развития *P. graminis* f. sp. *tritici* на производственных посевах пшеницы в Омске в 2009 году. По данным анализа международной лаборатории GRRC (Global Rust Reference Center, Дания) состав рас в популяции *P. graminis* f. sp. *tritici* в 2016–2017 годах на территории Омской области и Алтайского края представлен большим разнообразием высоковирулентных рас. В популяциях *P. graminis* f. sp. *tritici*, в которых преобладает большое число рас, в течение вегетационного периода доминирует, как правило, только часть из них. В системе формирования локальных популяций немалая роль отводится абиотическим факторам среды, что приводит к смене доминантных рас в разные вегетационные сезоны при отсутствии изменений в составе районированных сортов. Методы, основанные на анализе нуклеиновых кислот, дают более полную информацию о

генетическом разнообразии патогена по сравнению с анализом вирулентного состава и цитологическими исследованиями морфологии инфекционных структур. Среди разнообразия молекулярных техник при работе с популяциями фитопатогенных грибов в настоящее время используют молекулярные маркеры, основанные на полиморфизме ДНК: SSR-маркеры и SNP-маркеры.

Для достижения адекватного генетического контроля заболевания важен интегральный подход, привлекающий как данные об источниках устойчивости пшеницы, так и актуальные сведения о действующих в регионе патогенных популяциях, их расовом составе и динамике генов вирулентности. Идентификация генов устойчивости пшеницы в селекционном материале является точной и наиболее быстрой процедурой в случае использования молекулярных ДНК маркеров. Генетическая защита от возбудителя стеблевой ржавчины наиболее эффективна и экологически безопасна. Для своевременной сортосмены необходим запас генетически охарактеризованных доноров и источников устойчивости. Таким образом, комплексное исследование патосистемы «мягкая пшеница — возбудитель стеблевой ржавчины» позволяет охарактеризовать происходящие в ней микроэволюционные процессы, спрогнозировать возможные изменения в фитопатогенном комплексе пшеницы в отношении возбудителя стеблевой ржавчины на производственных посевах и оптимизировать защитные мероприятия.

Глава 2. Материалы и методы

2.1 Спорный материал

Сбор инфицированного растительного материала *P. graminis* f. sp. *tritici* проводился с 2017 по 2020 год с восприимчивых сортов яровой мягкой пшеницы (*T. aestivum*), произрастающей на производственных и опытных полях в регионах Западной Сибири: Новосибирской, Омской областей и Алтайского края (рис. 3). В качестве ловушек инфекции были восприимчивые к стеблевой ржавчине сорта Хакасская, Чернява-13, Скала, Дуэт.



Рисунок 3. Регионы сбора проб *P. graminis* на территории Западной Сибири в период 2017–2018 гг. (сборы материала производились только в выделенных зонах регионов).

За период 2017–2020 годов была получена рабочая коллекция 238 монопустульных изолятов *P. graminis* f. sp. *tritici*, выделенных из образцов инфекции отобранных на стадии урединопустул, Западно-Сибирском регионе ([Приложение 2](#)).

Для анализа генетического полиморфизма западносибирской популяции возбудителя стеблевой ржавчины пшеницы была дополнительно привлечена внешняя группа из 110 монопустульных изолятов из Центрального региона Российской Федерации, которые были любезно переданы сотрудниками ФГБНУ Всероссийского научно-исследовательского института фитопатологии лаборатории (Московская область, Одинцовский район, р. п. Большие Вяземы).

Для расширенного иммуногенетического анализа яровой мягкой пшеницы с транслокацией 2NS/2AS с геном *Sr38* была привлечена тестерная группа из 28 монопустульных изолятов *P. graminis* f. sp. *tritici* из Красноярского края.

В рамках диссертационной работы получено и/или анализировано 438 монопустульных изолятов *P. graminis* f. sp. *tritici* с территории Российской Федерации ([Приложение 2](#)). Более подробную информацию по монопустульным изолятам *P. graminis* f. sp. *tritici*, задействованным в данной работе, можно получить по личному запросу в лаборатории молекулярной фитопатологии ИЦиГ СО РАН.

За пятилетний период наблюдений (2017–2021 гг.) эпифитотии возбудителя стеблевой ржавчины в Западной Сибири не фиксировались. При отборе спорных образцов *P. graminis* фенологическая стадия развития пшеницы соответствовала 77–87 молочно-восковой спелости. Полевой анализ посевов пшеницы показал, что степень пораженности возбудителем стеблевой ржавчины колебалась от 0 % до 45 %.

2.1.1 Получение и размножение монопустульных изолятов в условиях лаборатории

Монопустульный изолят *P. graminis* f. sp. *tritici* — группа генетически однородных спор, которые являются клональными потомками одной споры (чистая линия биотрофного гриба или штамм) (Наумов, 1939). Для получения монопустульного изолята выполняли отбор каждого инфицированного растения на наличие четко очерченных пустул, несросшихся с другими, имеющих ровные края (Михайлова и др., 1998).

Для каждого монопустульного изолята определено фенотипическое проявление вирулентности на Международном североамериканском наборе тестерных линий пшеницы (*Pgt differential set*). Каждый изолят был протестирован не менее двух раз на наборе тестерных линий пшеницы. В качестве контроля был использован отечественный сорт яровой мягкой пшеницы — Хакасская и международный стандарт восприимчивости — сорт Могоссо.

Для инокуляции растения споры предварительно смешивали с минеральным маслом Novac Fluid (3M Novac™ 7100 Engineered Fluid, США). Суспензию спор распыляли с помощью аэрографа (Jas 1120, Китай) и компрессора (Jas 1207, Китай) на нижнюю поверхность листьев, высаженных по 5–10 штук в горшок, на стадии 2–3 листьев (около 10 дней после посева семян). Инокулированные растения помещали в светоизолированную камеру с повышенной влажностью при температуре $18\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ на 24 ч, а затем переносили в комнату для выращивания с постоянной температурой $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ с запрограммированным фотопериодом в 16 часов. Растения были накрыты целлофановым изолятором в виде куба во избежание загрязнения и контаминаций.

При временном хранении монопустульные изоляты были помещены в холодильную камеру на температуру $+5\text{--}8\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 3–4 месяцев. Предварительно споры были высушены в эксикаторной камере (до 20–30 % относительной влажности) и помещены в герметично-закрытые стеклянные пробирки. На более длительное хранение свежесобранные споры (высушенные до 20–30 % относительной влажности) заморожены в морозильной камере при сверхнизкой температуре $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ (MDF-DU300H, PNCbi, Япония). Споры были помещены в желатиновые капсулы, а они, в свою очередь, в пробирки типа «Eppendorf» 1.5 мл. Регенерацию спор после длительного хранения при отрицательных температурах проводили при помощи термической обработки спор в термостате типа «Драй-блок» (BioSan, TDB-120, Латвия) при $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 30 минут, с последующим выдерживанием спор во влажной камере со 100 % относительной влажностью.

В связи с тем, что для выделения монопустульных изолятов используется полевой материал, на образце инфицированного растения изначально допускается присутствие сопутствующей микофлоры, чаще всего это возбудитель бурой ржавчины (*P. triticina*). Во избежание последующей контаминации монопустульного изолята проводился

визуальный контроль и полная выбраковка растений с неодинаковыми по форме пустулами, а также со специфическим для бурой ржавчины типом развития пустулы.

Для накопления аналитического количества спор (около 25 мкг) было проведено 5 последовательных уредогенераций на восприимчивых растениях. По истечении 7–14 дней после инокуляции, в зависимости от агрессивности штамма гриба, происходил сбор спор. При помощи вакуумного насоса Microsart Mini.vac (Microsart, Германия) и насадки с выпускным клапаном (Mini Cyclone Spore Collector, США) производился сбор в пустые желатиновые капсулы емкостью 1 мл или в стеклянный флакон емкостью 20 мл. Необходимо отметить, что с одного зараженного растения сбор спор выполнялся 2–3 раза, после чего развитие спор в пустулах прекращалось. При учете времени, необходимого для прорастивания новых незараженных растений, и латентного периода развития эндофитной стадии гриба, предшествующего сбору свежего материала спор, каждый монопустульный изолят накапливался в течение 3–4 месяцев. Для сохранения жизнеспособности спор собранный материал помещался в холодильную камеру на +4–8 °С.

Для предотвращения появления вторичной инфекции на растениях и почве в изолированных вазонах — мицелия мучнистой росы (*Blumeria graminis* DC Speer), строго контролировались освещение и влажность субстрата.

2.2 Растительный материал

2.2.1 Селекционные линии и сорта *Triticum aestivum* L.

В исследовании по генотипированию мы использовали селекционный материал яровой мягкой пшеницы, адаптированный к условиям Западной Сибири, который был любезно предоставлен: (1) ФГБОУ ВО Омский ГАУ (Омская область) — 80 сортов/линий пшеницы ([Приложение 3](#)); (2) ФИЦ ИЦиГ СО РАН (Новосибирская область) — 132 сорта/линии пшеницы, происходящих из семи селекционных центров России: Самарской области (Самарский НИИСХ), Алтайского края (Алтайский НИИЗИС), Новосибирской области (СибНИИРС), Красноярского края (Красноярский НИИСХ), Кемеровской области (Кемеровский НИИСХ), Тюменской области (НИИСХ Северного Зауралья) и Омской области (Сибирский НИИСХ), созданных в 1963–2008 годах. Список сортов

представлен в [Приложении 4](#). Образцы сортов хранятся в коллекции ИЦиГ СО РАН (<https://ckp.icgen.ru/plants/fond/>).

Для определения ювенильной устойчивости тестируемых сортов и линий пшеницы из селекционных линий сортов ИЦиГ СО РАН и ОмГАУ провели оценку на стадии 2–3 листьев в соответствии с алгоритмом действий, приведенном в подглаве 2.3.1 и 2.3.2.

2.2.2 Международный североамериканский набор линий-дифференциаторов генов *Sr*

Для дифференцирования рас возбудителя стеблевой ржавчины пшеницы использовали международный североамериканский набор тестерных линий пшеницы (*Pgt differential set*) (Roelfs, Martens, 1988). Тестерные линии были любезно переданы проф. Колмером (Министерство сельского хозяйства Канады), Моргуновым (Международный институт защиты пшеницы и кукурузы CIMMYT), проф. Стефенсоном (Лаборатория по ржавчинным болезням пшеницы, Сельскохозяйственный институт, Миннесота, США). Данный набор состоит из 5 групп по 4 изогенных *Sr*-линий пшеницы в каждой группе (табл. 1).

2.2.3 Контрольные сорта и линии *T. aestivum*

В качестве контроля в лабораторных фитопатологических исследованиях был использован отечественный сорт яровой мягкой пшеницы Хакасская и международный стандарт восприимчивости сорт Могоссо.

Для выявления частоты авирулентных и вирулентных клонов монопустульных изолятов *P. graminis* f. sp. *tritici* к гену *Sr38* использовали тестерные генотипы пшеницы: изогенная линия и сорт из наборов для дифференциации рас возбудителя стеблевой ржавчины пшеницы США и Канады, несущие ген *Sr38* (VPM-1, Trident, соответственно).

Положительные контроли в работе по идентификации генов *Sr* в коллекции яровой мягкой пшеницы представлены в [Приложении 5](#).

2.3 Лабораторные фитопатологические методы

2.3.1 Инокуляция растений спорами фитопатогенного гриба

Семена пшеницы восприимчивого к возбудителю стеблевой ржавчины сорта Хакасская, предварительно протравленные слабым раствором перманганата калия (KMnO_4), замачивали до появления проростков, после чего сеяли в вазоны по 6–8 штук. Растения заражали на стадии 2–3 листьев (около 10 дней после посева семян). В стеклянную емкость для аэрографа вносили суспензию спор (урединиоспор) вместе с минеральным маслом Novac Fluid (3M Novac™ 7100 Engineered Fluid, США) и проводили инокуляцию нанесением суспензии на нижнюю поверхность листьев при помощи аэрографа (Jas 1120, Китай) и компрессора (Jas 1207, Китай). После испарения масла листья растений опрыскивали водой из мелкодисперсного пульверизатора для создания искусственной росы.

Зараженные растения снова обильно опрыскивали водой и помещали во влажную камеру (глухой металлический шкаф с установленным увлажнителем воздуха Bonesco U300, Китай) для создания необходимых для прорастания спор условий влажности и освещенности: 100 % влажность и полное отсутствие света при температуре окружающей среды 15–20 °C. Растения находились во влажной камере на протяжении 24 часов с момента инокуляции. Затем растения перемещали в индивидуальные целлофановые изоляторы, предназначенные для работы с карантинным объектом *P. graminis* f. sp. *tritici*, и включали светодиодное фитоосвещение (10000 Люкс) со сменой светового режима (день/ночь). Период времени от заражения до появления первых симптомов для *P. graminis* f. sp. *tritici* составляет 7–8 дней, но может возрасти в зависимости от внешних условий. При успешном заражении к этому времени на листьях появляются ромбовидные хлорозы. Однако сформировавшиеся пустулы с урединиоспорами на листьях появляются примерно на 10 день после инокуляции. На 15 день после инокуляции оценивается внешний вид симптомов, размер и характер пустул.

2.3.2 Определение рас *P. graminis* f. sp. *tritici* с использованием международного набора тестерных линий пшеницы

Определение фитотипов вирулентности гриба проводилось на проростках 20-ти тестерных Sr-линий пшеницы (*Pgt* differential set) для дифференцирования рас

P. graminis f. sp. *tritici* в лабораторных условиях (Roelfs, Martens, 1988). Инокуляция растений монопустульными изолятами *P. graminis* f. sp. *tritici* осуществлялась стандартными методами, описанными в данной подглаве.

Стоит обратить внимание, что часть генов устойчивости, входящих в состав тестерных Sr-линий пшеницы, обычно проявляют большую эффективность к патогену при температуре ниже 20 °С, это линии с генами *Sr6*, *Sr17* и *Sr38*, проявляющими температурно-зависимую экспрессию (McIntosh, Wellings, 1995). В этой связи на четвертые-пятые сутки после инокуляции температуру в помещении снижают (Jin et al., 2008). Однако коллеги из Всемирного справочного центра ржавчины (Global Rust Reference Center, Дания) в своих исследованиях утверждают, что не стоит чрезмерно снижать температуру, так как для споруляции *P. graminis* наиболее подходящим является диапазон 25–35 °С (Сколотнева и др., 2020). В помещении для культивирования патогена мы поддерживали постоянную температуру 20 °С ± 2 °С с запрограммированным фотопериодом в 16 часов.

Инфекционные типы (ITs, infection types) оценивали через 12–14 дней после инокуляции изолятами при использовании модифицированной шкалы Стэкмана (Roelfs, Martens, 1988) (рис. 4). При этом устойчивой (Low, L) реакцией растения считались инфекционные типы «0», «;», «;1», «1», «2+» и «2», восприимчивой (High, H) – «3+» и «4», за исключением реакций на следующих линиях: для *Sr30* только при IT= «3+» и «4»; для *Sr17* и *Sr21* — значения ITs «3–» и более; для *Sr36* — при всех значениях ITs, превышающих «0» и «;». Данные рекомендации от GRRC приведены по итоговым результатам международных семинаров, посвященных методам типирования мировой коллекции изолятов *P. graminis* f. sp. *tritici* (Pretorius, 2015).

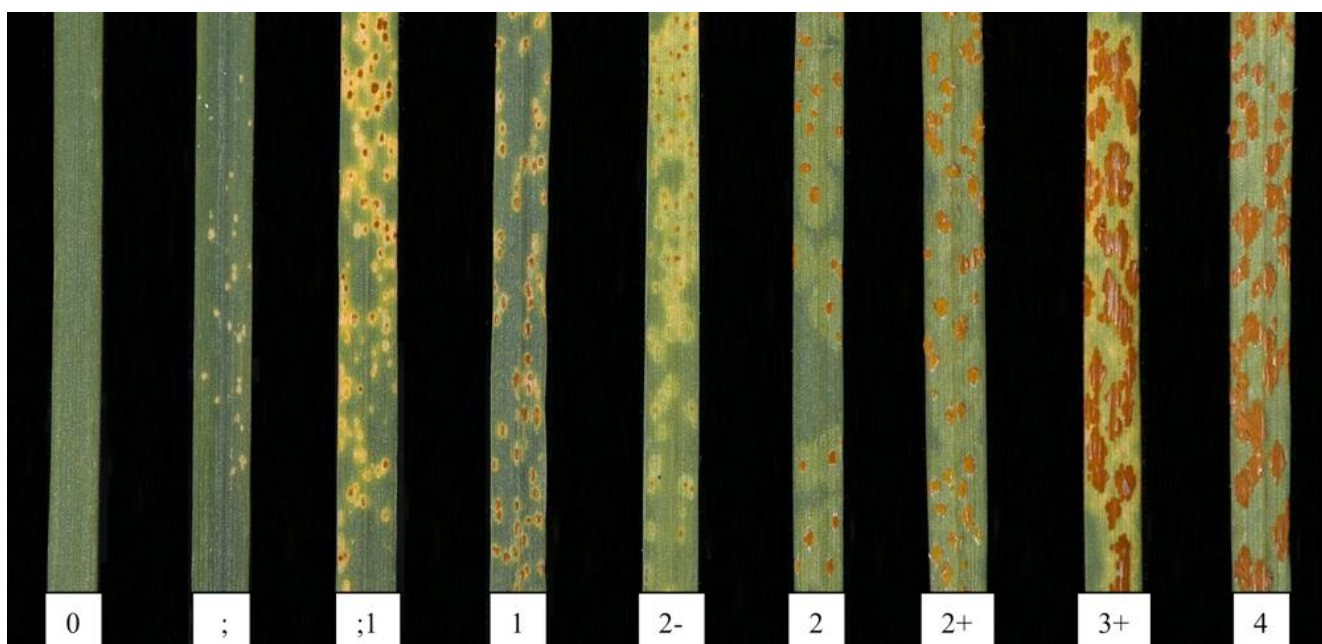


Рисунок 4. Шкала инфекционных типов *P. graminis* f. sp. *tritici* (Stakman et al., 1962).

Ключ по определению рас *P. graminis* f. sp. *tritici* основан на ответах растений на заражение возбудителем стеблевой ржавчины, которые разделяют на два типа: низкий (L — Low) и высокий (H — High). На основе реакций растений (L и H) каждой группе присваивается буквенный код. В результате каждая раса характеризуется индексом, состоящим из пяти согласных букв английского алфавита (Roelfs, Martens, 1988). Например, раса MTMTC (изолят Pgt_Omsk_19_7) имеет вирулентность к *Sr5*, *Sr6*, *Sr7b*, *Sr8a*, *Sr11*, *Sr9g*, *Sr36*, *Sr17*, *Sr9a*, *Sr9d*, *Sr10*, *SrTmp* и *SrMcN*, следовательно, дифференциаторы с этими генами в ответ на поражение проявляют тип реакции «H», а остальные «L». Алгоритм построен на сопоставлении реакции растений внутри группы, следуя ключу в таблице 5. В данном случае первая группа имеет: *Sr5* – H, *Sr21* – L, *Sr9e* – L, *Sr7b* – H, значит этой группе присваиваем букву – M, и далее переходим к следующей группе. Такой подход для генетической дифференциации рас *P. graminis* f. sp. *tritici* оказался удобным, и он стал наиболее часто используемым в лабораториях по всему миру, что создало удобство при обмене информацией о расах (Roelfs, Martens, 1988; Knott, 1990).

Таблица 5. Ключ для определения рас *P. graminis* f. sp. *tritici* (Roelfs, Martens, 1988; Jin et al., 2008)

Группа	Тип реакций на линиях с генами <i>Sr</i>			
1	5	21	9e	7b
2	11	6	8a	9g
3	36	9b	30	13–17

Группа	Тип реакций на линиях с генами <i>Sr</i>			
4	<i>9a</i>	<i>9d</i>	<i>10</i>	<i>Tmp</i>
5	<i>24</i>	<i>31</i>	<i>38</i>	<i>McN</i>
B	L	L	L	L
C	L	L	L	H
D	L	L	H	L
F	L	L	H	H
G	L	H	L	L
H	L	H	L	H
J	L	H	H	L
K	L	H	H	H
L	H	L	L	L
M	H	L	L	H
N	H	L	H	L
P	H	L	H	H
Q	H	H	L	L
R	H	H	L	H
S	H	H	H	L
T	H	H	H	H

2.4 Полевая оценка селекционных линий и сортов яровой мягкой пшеницы по устойчивости к *P. graminis* f. sp. *tritici*

Полевую оценку устойчивости на стадии взрослого растения у яровой мягкой пшеницы проводили на инфекционном фоне на полях Сибирского питомника челночной селекции (СПЧС) СИММУТ в Омске с августа по сентябрь, в два сезона, в 2018–2019 годах в соответствии с методиками экспериментов, описанных у Olivera с соавторами (2012). В питомниках каждый тестируемый генотип выращивали в метровом ряду с 20–30 см между рядами в соответствии с систематическим методом размещения образцов. В питомнике смесь высоковосприимчивых сортов пшеницы была высажена по всему полю в качестве накопителей и положительного контроля возбудителя стеблевой ржавчины. Информация о местонахождении питомника, управлении, процедурах оценки и наблюдения за разведением описана у проф. Шаманина (2015). Стандартные сорта: Памяти Азиева (среднеранний); Омская 29, Дуэт (среднеспелый); Омская 35 (среднепоздний) были включены в исследование как лучшие стандарты восприимчивости, проявляющейся к комплексу фитопатогенов в условиях Западной Сибири. Площадь покрытия и степень поражения злаковых растений к возбудителю стеблевой ржавчины определялись и проводились в условиях опытного поля ОмГАУ по модифицированной шкале Кобба (Peterson et al., 1948; Койшыбаев, Муменджанов, 2016),

подразделялись на: восприимчивые (S — Susceptible), умеренно восприимчивые (MS — Moderately susceptible), умеренно устойчивые (MR — Moderately resistant) и устойчивые (R — Resistance).

2.5 Молекулярно-генетические методы изучения системы патоген-хозяин

2.5.1 Выделение ДНК из гриба и растений пшеницы

Выделение геномной ДНК из растительной ткани и спор гриба из различных стадий спороношения проводили с помощью модифицированного метода экстракции (СТАВ) на основе бромида цетилтриметиламмония (ЦТАБ) (Michiels et al., 2003). В случае растительной ткани, геномную ДНК выделяли из 5-ти свежих (массой 100–150 мг), объединённых, проростков пшеницы 10–15 дней. Растительную ткань или споры гриба (массой 2.8 мг) (или растительную ткань со спорами гриба в случае эциоспороношения) помещали в винтовую микропробирку объемом 2 мл (SSIbio, США) с лизирующим матриксом Lysing Matrix Z Bulk (MP Biomedicals, США) для гомогенизации в количестве 0.9 г на пробирку. К материалу добавляли 700 мкл экстракционного буфера [2 % (вес/объем) ЦТАБ; 1.4 М NaCl; 10 mM Tris HCl pH 8.0; 20 mM EDTA pH 8.0; 1 % (вес/объем) PVP (polyvinylpyrrolidone)], нагретого до 65 °C. Гомогенизировали материал на приборе FastPrep-24 (MP Biomedicals, США) с программой №1 (60 секунд при 4 м/сек). Измельченный материал инкубировали при 65 °C в течение 30–50 минут. По истечении времени добавляли 700 мкл смеси хлороформ/изоамиловый спирт (24:1), перемешивали и центрифугировали 15 минут при 12000 об/мин (Eppendorf 5415 R, Германия). Супернатант (верхняя фаза) переносили в новую пробирку типа Eppendorf объемом 1.5 мл. Повторно добавляли хлороформ объемом 1:1, перемешивали и центрифугировали 15 минут при 12000 об/мин. После центрифугирования верхнюю водную фракцию переносили в новые пробирки типа Eppendorf объемом 2 мл, добавляли два объема 96 % холодного (–20 °C) этанола и перемешивали. После центрифугирования (15 мин, 12000 об/мин) супернатант сливали и осадок ДНК промывали 70 % этанолом, высушивали и ресуспендировали в 50–70 мкл TE буфера.

Количество ДНК образцов измеряли флуориметром Qubit 4 (Life Technologies, США) с помощью набора для анализа широкого диапазона (BR — Broad-Range), используя 2 мкл образца на пробирку.

Очистку ДНК для секвенирования по Сэнгеру осуществляли с использованием набора «Биолабмикс для элюции ДНК из агарозного геля», следуя протоколу производителя.

2.5.2 Секвенирование по Сэнгеру

Секвенирование по Сэнгеру осуществляли на автоматическом генном анализаторе ABI 3130XL Genetic Analyser (Applied Biosystems, США) в ЦКП «Геномика» (ИХБФМ СО РАН, Новосибирск). Реакцию проводили следующим образом: брали 3 мкл 1 × буфер, 1.5 мкл BigDye Terminator v.3.1, 3.2 пмоль праймера, 30 нг ДНК, добавляли деионизированную H₂O до объема 15 мкл. Условия прохождения реакции: 96 °C — 1 мин, далее 25 циклов (96 °C — 10 сек, 50 °C — 5 сек, 60 °C — 4 мин) на амплификаторе BioRad T100 (BioRad, США). Были использованы олигонуклеотиды: ITS1rustF10d — 5'–TGAACCTGCAGAAGGATCATTA; StdLSUR2a — 5'–AGACTGCTACATTTTCCTTAAACCC (Barnes, Szabo, 2007). Полученные последовательности анализировали с использованием программ Chromas lite (http://www.techneleysium.com.au/chromas_lite.html).

2.5.3 SSR-генотипирование монопустульных изолятов *P. graminis* f. sp. *tritici*

Для оценки генетического полиморфизма отобранных монопустульных изолятов возбудителя стеблевой ржавчины пшеницы были использованы праймеры на микросателлитные локусы, представленные в [Приложении 6](#). (Jin et al., 2009; Stoxen, 2012; Zhong et al., 2009).

Состав реакционной смеси был следующий: ДНК в концентрации 20 нг/мкл, 1.3 мкл буфера (67 mM Tris-HCl pH 8.8; 18 mM (NH₄)₂SO₄; 1.7 mM MgCl₂; 0.01 % Tween 20), 1 ед/мкл ДНК полимеразы *HS-Taq*, 1.3 пМ прямого праймера с хвостом M13, 1.3 пМ обратного праймера, 0.54 mM dNTP, 30 пМ флюороформ-M13 (FAM) и стерильная деионизированная вода до объема 13 мкл. Амплификацию осуществляли по протоколу Touchdown: 95 °C — 5 мин, 12 циклов с постепенным понижением температуры отжига праймеров на 0.5 °C/цикл (95 °C – 30 сек; 63 °C — 90 сек; 72 °C — 30 сек), затем 23 цикла (95 °C — 30 сек; 57 °C — 90 сек; 72 °C — 30 сек) и 72 °C в течение 10 мин. Электрофоретическое разделение полученных ПЦР-продуктов проводилось в 2 %-м агарозном геле толщиной 5 мм в 1xTBE буфере при 80 V. Фрагменты были

визуализированы в УФ-свете при помощи окрашивания бромистым этидием (EtBr — Ethidium bromide). Оставшаяся часть ПЦР продукта была разведена деионизированной H₂O в соотношении 3мкл продукта и 190 мкл H₂O и анализируется на капиллярном секвенаторе ABI 3130XL Genetic Analyser (Applied Biosystems, США) в ЦКП «Геномика» (ИХБФМ СО РАН, Новосибирск). Полученные результаты проанализированы с использованием программы Peak Scanner 2.0 (<http://peak-scanner-software.software.informer.com/2.0/>).

2.5.4 Идентификация генов *Sr* в селекционных линиях и сортах яровой мягкой пшеницы

Для скрининга селекционных линий и сортов *T. aestivum* из коллекции ОмГАУ и ИЦиГ использовали праймеры, рекомендованные для маркер-вспомогательной селекции (MAS — Marker assisted selection). В анализ было включено 18 ДНК-маркеров на 15 генов устойчивости, эффективных в условиях Западной Сибири на основании того, что в настоящий момент именно столько разработано и прошло верификацию на широком селекционном материале (*Sr2*, *Sr15*, *Sr22*, *Sr23*, *Sr24*, *Sr25*, *Sr31*, *Sr35*, *Sr36*, *Sr38*, *Sr39*, *Sr44*, *Sr45*, *Sr57* и *Sr6Ai/Sr6Ai#2*) (URL: https://maswheat.ucdavis.edu/protocols/stem_rust_protocols) (Приложение 7).

Состав реакционной смеси был следующий: ДНК растения в концентрации 30–35 нг/мкл, 1.3 мкл буфера (67 mM Tris-HCl pH 8.8; 18 mM (NH₄)₂SO₄; 1.7 mM MgCl₂; 0.01 % Tween 20), 1 ед/мкл ДНК полимеразы *HS-Taq*, 1.3 nM прямого праймера с хвостом M13, 1.3 nM обратного праймера, 0.54 mM dNTP, 30 pM флюороформ-M13 (FAM) и стерильная деионизированная вода до объема 13 мкл. Условия амплификации праймеров были подобраны и апробированы на сибирской коллекции яровой мягкой пшеницы (табл. 6).

Таблица 6. Характеристика расширенной панели молекулярных маркеров к генам устойчивости *Sr*

Гены	Маркеры	Положительный контроль	Условия амплификации (°C — отжига праймеров)	Длина фрагмента п.н.
<i>Sr2</i>	Xgwm533	Pavon76	62	120
	Sr2ger93p			

Sr15	Xsts638	W2691*2/NORKA-SR15	56	542
Sr22	CFA2019	SWSR22T.B.	Touchdown 65–51	234
Sr23	XTaLr16_RGA266585	Buck Buck	52	57
Sr24	Sr24#12	RL6064	61	719
Sr25	Xwmc221	LC-SR25-ARS	60	S-220 R-200
Sr26	Sr26#43	EAGLE-SR26.SR9G	61	R-207
	BE518379		61	S-303
Sr31	PrCEN-2	Aurora	60	980
Sr35	NL9	W3763-SR35	61	719
Sr36	STM773-2	Sr36(CI12632)/8*LMPG	64–57–55	155
Sr38	Ventriup+Ln2	TcLr37	65	259
Sr39	BE500705	RL6082	61	0 S-166
Sr44	Xbe404728	Taf-2	Touchdown 63–58.5	
Sr45	cssu45	нет контроля	60	R-220 S-238
Sr57	csLV34	TcLr34	58	R-150 S-229
Sr6Ai#2	TNAC1752_TaqI	Tulaykovskaya 10	56	350

Примечание: CAPS, cleaved amplified polymorphic sequences; EST, expressed sequence tag; KASP, kompetitive allele specific PCR; SCAR, sequence characterized amplified region; RGA, resistance gene analog; SSR, simple sequence repeats; STS, sequence tagged site; MAS, Веб-сайт — MASWheat — UC Davis (URL: https://maswheat.ucdavis.edu/protocols/stem_rust_protocols).

Электрофоретическое разделение полученных ПЦР-продуктов проводилось в 1–2 %-м агарозном геле толщиной 5 мм в 1хTBE буфере при 65–85 V. Фрагменты были визуализированы в УФ-свете при помощи окрашивания бромистым этидием (EtBr).

2.5.5 KASP-генотипирование коллекции яровой мягкой пшеницы

Коллекция яровой мягкой пшеницы была генотипирована KASP маркером Sr2ger93p к гену Sr2. KASP-маркер изготовлен компанией LGC Biosearch Technologies (Великобритания). Амплификацию маркера и дискриминацию аллелей проводили с использованием прибора QuantStudio 5 (Applied Biosystems), а данные анализировали с использованием программного обеспечения для проектирования и анализа QuantStudio™ V2.6.0 (Applied Biosystems). Реакции генотипирования проводили в соответствии с рекомендациями по генотипированию «Guide to running KASP genotyping on the ABI 7500 instrument».

2.6 Статистический анализ

2.6.1 Статистический анализ данных по признаку вирулентности мягкой пшеницы

Дендрограмма UPGMA построенная на степени сходства фенотипов вирулентности *P. graminis* f. sp. *tritici* в регионах Западной Сибири, основанная на простом несоответствии между фенотипами вирулентности, обнаруженными в каждой отдельной популяции, была получена с использованием программы SAHN пакета NTSYSPC, v. 2.1 (Exeter Software).

Фитопатологическая оценка инфекции в регионе проводилась сравнительным анализом состава рас *P. graminis* f. sp. *tritici* в Новосибирской области с составом рас Алтайского края и Омской области, данные по которым были получены ранее проф. Шаманиным В. П. (Shamanin et al., 2019) с привлечением кластерного анализа, выполненного с помощью пакета статистических программ PAST3 (Multivariate Software).

Значимость различий в степени тяжести заболевания между образцами разной группой устойчивости определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим проведением многогрангового теста Дункана с использованием языка программирования R в программе RStudio v. 3.5.1.

Внутрипопуляционное разнообразие *P. graminis* f. sp. *tritici* по вирулентности оценивали с использованием индекса Шеннона (Sh) — разнообразие по фенотипам (Shannon, Weaver, 1949; Sheldon, 1969). Индекс Шеннона нормализованный (Sh) вычисляется по формуле $Sh(A) = \sum p_i \ln(p_i) / \ln(n)$, где p_i — частота i -того фенотипа, n — общее количество изолятов в популяции A.

Вычисление индекса расстояний Космана KB_m для оценки степени дифференциации популяций *P. graminis* f. sp. *tritici* проводили с помощью пакета программ VIRULENCE ANALYSIS TOOL (VAT), а также расширенной версии (Kosman et al., 2008; Schachtel et al., 2012). В основе лежит алгоритм получения коэффициента простого несоответствия (the simple mismatch dissimilarity) путем сравнения профилей вирулентности (совокупности частот, выявленных в образце популяции генов вирулентности). Нормализованное значение индекса структурного разнообразия по Косману ($nD(T, KW)$) более применимо в случае сопоставления выборок с различным

объемом и вычисляется по формуле ($nD(T, KW) = [D(T, KW) - 1](k - 1)$), где $D(T, KW)$ показатель структурного разнообразия популяции (Kosman et al., 2019), а k — число изолятов в выборке.

2.6.2 Статистический анализ данных по SSR-генотипированию монопустульных изолятов

При статистической обработке данных по SSR-генотипированию использовали пакет программ GeneAlex. Оценка внутривидовой генетической изменчивости по микросателлитным локусам проводилась с применением следующих показателей: среднее число аллелей (N_a), число эффективных аллелей (N_e), ожидаемая (H_e) и наблюдаемая (H_o) гетерозиготность, индекс фиксации (F_{is}) и индекс Шеннона (I). Генетическое разнообразие и степень различий между выборками монопустульных изолятов различного географического происхождения оценивали с использованием индексов генетических расстояний (F_{ST} и R_{ST}), которые были рассчитаны с помощью алгоритма AMOVA (для 999 пермутаций).

Генетическую структуру определяли при помощи анализа главных компонент (PCA). Оптимизацию иерархической структуры коллекции проводили путем подсчета ΔK (где K – число групп высшей иерархии) в программе Structure 2.3.4. (Pritchard et al., 2009). В расчете были использованы различные значения гипотетических популяций от $K = 1$ до $K = 10$ (burn-in period = 200000; 500000 iterations). Оптимальные значения K были установлены с помощью онлайн программы Structure Harvester (Earl, von Holdt, 2011), основанной на принципе Evanno method (Evanno et al., 2005). Для этого результаты анализа были записаны в zip-файл, который был загружен на веб-страницу Structure Harvester (<https://taylor0.biology.ucla.edu/structureHarvester/>), где было определено идеальное значение ΔK .

Дендрограмму генетического родства монопустульных изолятов *P. graminis* f. sp. *tritici* строили методом UPGMA с использованием программного обеспечения PAST 4.10. Надежность топологии дендрограммы была оценена с помощью бутстреп-анализа с 1000 повторностями.

Глава 3. Результаты

3.1 Создание коллекции монопустульных изолятов *P. graminis* f. sp. *tritici*

За весь период работы по исследованию патогена в рамках диссертационной работы нами была получена рабочая коллекция 238 монопустульных изолятов *P. graminis* f. sp. *tritici*, выделенных из образцов инфекции отобранных на стадии урединиопустул, Омской, Новосибирской областей и Алтайском крае ([Приложение 2](#)). На основе рабочей коллекции изолятов создана уникальная коллекция из 25 монопустульных изолятов, отобранных по признаку вирулентности и высокой агрессивности в данных географических выборках. Агрессивность оценивали по скорости появления первых симптомов заболевания после инокуляции и по количеству пустул на единицу зараженной ткани хозяина. Кроме того, принадлежность монопустульных изолятов к пшеничной форме возбудителя стеблевой ржавчины (f. sp. *tritici*) была подтверждена путем секвенирования по Сэнгеру последовательностей ITS рДНК и их сопоставлением с референсными последовательностями *P. graminis* f. sp. *tritici* с помощью алгоритма BLASTn в базе данных GenBank.

Для каждого монопустульного изолята, отобранного в коллекцию, проведено фотодокументирование инфекционных типов на 20-ти тестерных Sr-линиях пшеницы (*Pgt* differential set) для дифференцирования рас *P. graminis* f. sp. *tritici*. Созданная коллекция монопустульных изолятов внесена в общую базу изолятов лаборатории молекулярной фитопатологии ИЦиГ СО РАН.

3.2 Структура западносибирской популяции *P. graminis* f. sp. *tritici* по признаку вирулентности

Выявление структуры западносибирской популяции *P. graminis* f. sp. *tritici* по вирулентности проводилось на споровых образцах, собранных в различных географических точках, с целью максимального охвата территории, являющейся в настоящее время ареалом развития патогена.

3.2.1 Анализ состава фенотипов вирулентности западносибирской популяции

P. graminis f. sp. *tritici*

Для определения состава рас или популяции гриба *P. graminis* f. sp. *tritici* на территории Западной Сибири проведен анализ 115 монопустульных изолятов (Новосибирская область — 35, Омская область — 46 и Алтайский край — 34), выделенных из общей популяции патогена в 2017–2018 годах при помощи международного набора тестерных линий пшеницы (*Pgt differential set*) в условиях лаборатории молекулярной фитопатологии ИЦиГ СО РАН. Списки рас *P. graminis* f. sp. *tritici*, идентифицированных в инфекции Западной Сибири, приведены в [Приложении 2](#).

Наблюдения за пшеничными посевами в Омской области и Алтайском крае в течение всего вегетационного сезона 2017–2018 годов показали средний уровень развития болезни: степень пораженности посевов возбудителем стеблевой ржавчины колебалась от 0 % до 45 % со степенью тяжести до 60S. Однако в Новосибирской области в 2017 году мы наблюдали две крупные вспышки развития стеблевой ржавчины, разделенных друг от друга значительным промежутком времени: (1) ранняя и (2) поздняя инфекция. Поражение было сильным и оценивалось как 70MS – 40S. Дальнейшего распространения возбудителя стеблевой ржавчины на посевах пшеницы не наблюдалось, что, вероятно, связано с установившейся в регионе низкой среднесуточной температурой (20–22°C), не соответствующей оптимальным показателям для инфицирования хозяина (22–25°C) и споруляции гриба (25–35°C) (Roelfs, 1992). Ко второй декаде августа климатические показатели вернулись к благоприятным для развития патогена и была обнаружена вторая вспышка заболевания, так называемая поздняя инфекция. Растения были на стадии молочно-восковой спелости зерна, поэтому болезнь не имела экономического значения в регионе.

Сопоставление фенотипического состава между выборками позволяет подтвердить или опровергнуть гипотезу существования единой генеральной популяции (Мироненко, 2016). Общими расами были TKRPF, QHNSF и MLLTF для Новосибирской и Омской областей и NFMSF, LKCSF, LKMSF и PKCSF — для Новосибирской области и Алтайского края. Среди образцов Новосибирской и Омской областей наиболее часто определялся раса TKRPF (вирулентный по отношению к *Sr5*, *Sr21*, *Sr9e*, *Sr7b*, *Sr6*, *Sr8a*,

Sr9g, *Sr36*, *Sr9b*, *Sr17*, *Sr9a*, *Sr10*, *SrTmp*, *Sr38* и *SrMcN*), что составляет до 36 % сбора *P. graminis* f. sp. *tritici*, полученного в течение 2017–2018 годов общей западносибирской выборки. Среди образцов Алтайского края и Новосибирской области преобладали расы LKCSF и PKCSF с частотами 16 % и 11 % от общей выборки. Редкие фенотипы чаще встречались в коллекциях из Омской области (RRGTF, RKRSP, RFRSF, RFRTF, RC RTP, QFRCF, QHNSF, SHNSF). В целом, вирулентность по отношению к *Sr21* дифференцировала расы по географическому происхождению: расы Q, R и T были общими для образцов Омской и Новосибирской областей, а расы L и P были общими для образцов Алтайского края и Новосибирской области. Интересная группа рас M (MPLTF, MTNTF, MTLTF, MLNTF, MQNTF, MLLTF и MQLTF) была выявлена в основной выборке из Омской области, включенной в исследование 2018 года. Они различаются вирулентностью до трех генов устойчивости (*Sr6*, *Sr8a*, *Sr9g*, *Sr21*, *Sr30*) и выглядят как семейство фенотипов вирулентности, возникающих в результате полового процесса. Раса MLLTF также была выявлена среди образцов мягкой пшеницы Новосибирской области в 2018 году.

Согласно индексу Шеннона, характеризующему внутрипопуляционное разнообразие, все три выборки отличались высокой изменчивостью по признаку вирулентности (табл. 7). Наименьшее разнообразие было выявлено среди образцов из Алтайского края. Внутрипопуляционное разнообразие генеральной выборки оценивалось высокими значениями ($Sh = 2.87$ в 2017 г. и $Sh = 2.16$ в 2018 г.).

Таблица 7. Показатель разнообразия географических выборок западносибирской популяции *P. graminis* f. sp. *tritici*

Индекс Шеннона (Sh)	Омская область	Новосибирская область	Алтайский край	Западная Сибирь
2017	1.95	2.22	1.80	2.87
2018	1.92	1.40	1.33	2.16

Отношения между фенотипами вирулентности показаны на дендрограмме UPGMA (рис. 5). Фенотипы вирулентности разошлись по четырем кластерам. Два кластера содержат фенотипы общие для образцов из Новосибирской и Омской областей: только в 2017 году (группа A) и в оба наблюдаемых года (группа C). Все алтайские фенотипы, а также расы NFMSF, LKCSF, LKMSF и PKCSF из Новосибирской области принадлежат к

кластеру В. Близкородственные фенотипы М, обнаруженные в основном в Омской области в 2018 году, сгруппированы в отдельный кластер D.

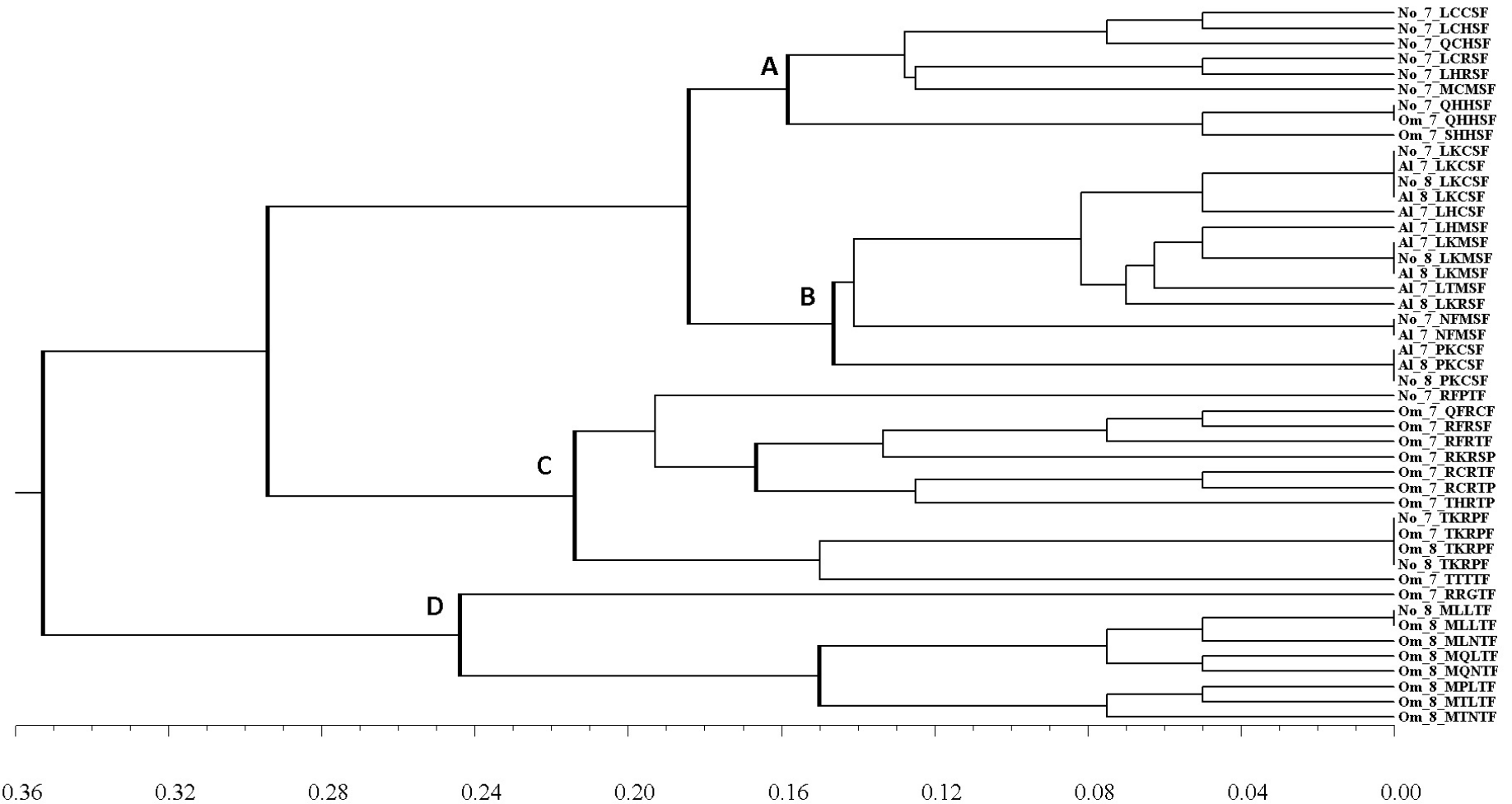


Рисунок 5. Степень сходства фенотипов вирулентности *P. graminis* f. sp. *tritici* в регионах Западной Сибири в 2017–2018 гг. Код указывает место отбора проб (No = Новосибирская область, Om = Омская область, Al = Алтайский край), год проведения исследования (7 = 2017, 8 = 2018) и название расы. Буквы А, В, С, D обозначают группу близкородственных рас *P. graminis* f. sp. *tritici*, пояснения в тексте. Жирным выделены клады поддержанные высокими индексами бутстрепа (более 50 %).

3.2.2 Фенотипы вирулентности *P. graminis* f. sp. *tritici* в Новосибирской области

В связи с разницей силы вспышек возбудителя стеблевой ржавчины в регионах, отдельно мы описали расы для локальной популяции патогена *P. graminis* f. sp. *tritici* в Новосибирской области в 2017 году. Так как в этом году в Новосибирской области был зарегистрирован период отсутствия развития болезни между первой и второй вспышками инфекции, мы включили в сравнительный анализ данные по расам ранней и поздней инфекции. Обнаружено, что расы ранней и поздней инфекции не пересекаются. Доминантными расами ранней инфекции были QCRSF и QCHSF с частотой встречаемости 40 % и 20 %, а для поздней инфекции преобладала одна раса TKRPF (53 %) (табл. 8). Данная раса отличается высокой степенью вирулентности (к генам *Sr*: 5, 7b, 8a, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, *McN* и *Tmp*).

Таблица 8. Состав рас новосибирской популяции гриба *P. graminis* f. sp. *tritici*, 2017 г.

Частота рас	Ранняя инфекция	Поздняя инфекция
Доминантные расы	QCRSF (40 %), QCHSF (20 %)	TKRPF (53 %)
Редкие/единичные расы	LCRSF (13 %), LHRSF (13 %), LCCSF (7 %), LCHSF (7 %)	LKCSF (12%), NFMSF (12 %), RFPTF (12 %) MCMSF (6 %), QHHSF (6 %)
Всего изолятов	15	17

Примечание: в процентах (%) выражается частота встречаемости рас в популяции *P. graminis* f. sp. *tritici* Новосибирской области.

Большинство изолятов *P. graminis* f. sp. *tritici* было вирулентно к линиям пшеницы с генами *Sr*5, *Sr*9a, *Sr*9b, *Sr*9d, *Sr*9g, *Sr*10, *Sr*17, *Sr*38, *SrMcN*, но авирулентно к линиям с генами *Sr*11, *Sr*24, *Sr*30, *Sr*31 (табл. 9). Генами, дифференцировавшими локальную популяцию патогена, были *Sr*6, *Sr*7b, *Sr*8a, *Sr*9e, *Sr*21, *Sr*36 и *SrTmp*.

Таблица 9. Формула вирулентности рас популяции *P. graminis* f. sp. *tritici* Новосибирской области, 2017 г.

Расы	Вирулентность к генам <i>Sr</i>	Авирулентность к генам <i>Sr</i>
LCCSF	5, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 38, <i>McN</i>	6, 7b, 8a, 9b, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, 36, <i>Tmp</i>
LCHSF	5, 9a, 9b, 9d, 9g, 10, 17, 38, <i>McN</i>	6, 7b, 8a, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, 36, <i>Tmp</i>
LCRSF	5, 9a, 9b, 9d, 9g, 10, 17, 36, 38, <i>McN</i>	6, 7b, 8a, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, <i>Tmp</i>
LHRSF	5, 6, 9a, 9b, 9d, 9g, 10, 17, 36, 38, <i>McN</i>	7b, 8a, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, <i>Tmp</i>
LKCSF	5, 6, 8a, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 38, <i>McN</i>	7b, 9b, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, 36, <i>Tmp</i>
MCMSF	5, 7b, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 36, 38, <i>McN</i>	6, 8a, 9b, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, <i>Tmp</i>
NFMSF	5, 8a, 9a, 9d, 9e, 9g, 10, 17, 36, 38, <i>McN</i>	6, 7b, 9b, 11, 21, 24, 30, 31, <i>Tmp</i>
QCRSF	5, 9a, 9b, 9d, 9g, 10, 17, 21, 38, <i>McN</i>	6, 7b, 8a, 9e, 11, 24, 30, 31, 36, <i>Tmp</i>
QCRSF	5, 9a, 9b, 9d, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, <i>McN</i>	6, 7b, 8a, 9e, 11, 24, 30, 31, <i>Tmp</i>
QHHSF	5, 6, 9a, 9b, 9d, 9g, 10, 17, 21, 38, <i>McN</i>	7b, 8a, 9e, 11, 24, 30, 31, 36, <i>Tmp</i>

Расы	Вирулентность к генам <i>Sr</i>	Авирулентность к генам <i>Sr</i>
RFPTF	5, 7b, 8a, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 21, 30, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	6, 9b, 9e, 11, 24, 31
TKMNC	5, 7b, 8a, 9a, 9g, 10, 17, 21, 36, <i>McN</i>	9b, 9d, 11, 24, 30, 31, 38, <i>Tmp</i>
TKRPF	5, 7b, 8a, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	9b, 11, 24, 30, 31

Данные по кластерному анализу показали (рис. 6), что большинство рас из образцов новосибирской ранней инфекции, в том числе доминантная раса QCHSF, группируются с расами, зарегистрированными в том же году в Омской области. Расы поздней инфекции группируются с расами, идентифицированными в образцах популяции Алтайского края, собранных также в 2017 году Шаманиным В. П. (Shamanin et al., 2018), вплоть до совпадения некоторых рас: NFMSF, LKCSF (обведены красной рамкой, рис. 6).

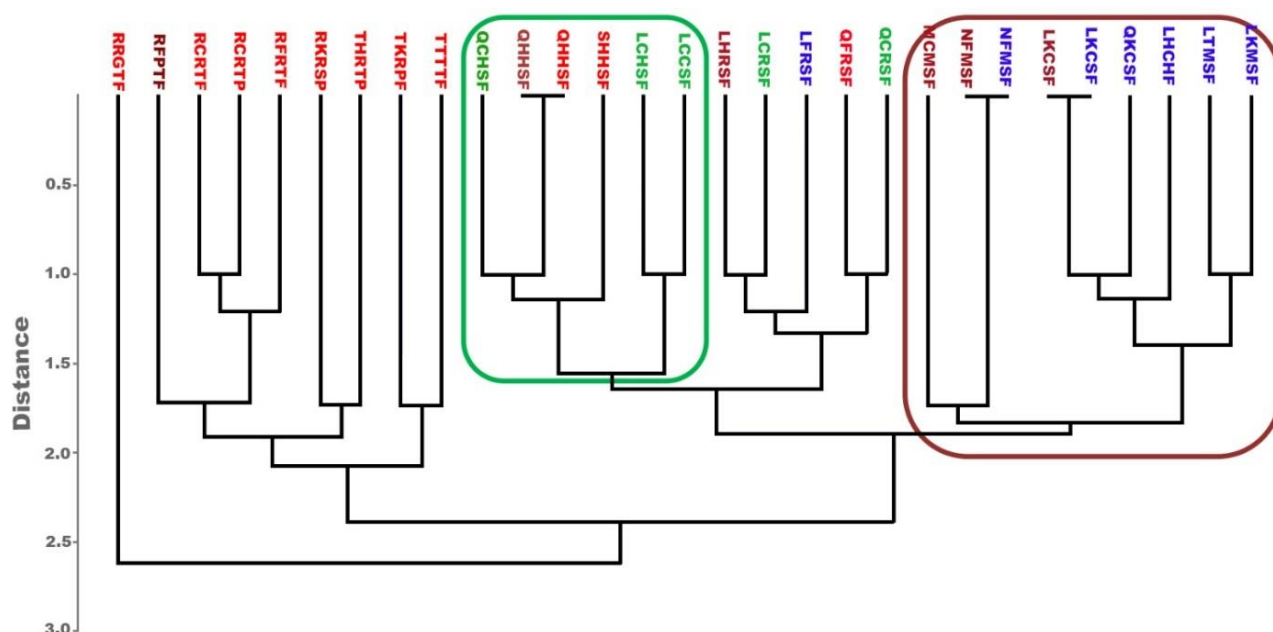


Рисунок 6. Кладограмма, построенная методом UPGMA (PAST software) по данным состава генов вирулентности у сравниваемых рас *P. graminis* f. sp. *tritici*, выделенных из образцов инфекции 2017 г. Условные обозначения: красным и синим шрифтом написаны расы, выделенные из образцов Омской области и Алтайского края, соответственно (Shamanin et al., 2019); зеленым и коричневым шрифтом написаны названия рас, выделенных из образцов ранней и поздней инфекции в Новосибирской области, соответственно.

3.2.3 Частота вирулентности в западносибирской популяции *P. graminis* f. sp. *tritici*

В ходе исследования в 2017–2018 годах в западносибирской популяции возбудителя стеблевой ржавчины не было выявлено авирулентных изолятов к генам устойчивости *Sr5*, *Sr9a*, *Sr10*, *Sr38*, *SrMcN*. Все протестированные изоляты *P. graminis* f. sp. *tritici* были

авирулентны к *Sr31*, что согласуется с полевым скринингом линий пшеницы *Sr31* (Benno)/6*LMPG-6 DK42, Seri-82, PBW-343, Cham-10, Vasanora, несущих транслокацию ржи (Shamanin et al., 2010; Сколотнева и др., 2018). Многократная встречаемость вирулентности к *Sr24* была зарегистрирована среди омских образцов в 2017 году, остальные образцы на 100 % не были вирулентны к сортам с геном *Sr24*.

Вирулентность изолятов *P. graminis* f. sp. *tritici* по отношению к *Sr6*, *Sr8a*, *Sr9b*, *Sr9d*, *Sr9g*, *Sr17* и *Sr36* была высокой в каждом географическом образце с частотами от 52.0 % до 95.7 %. Среди образцов Алтайского края обнаружена 100 % частота вирулентности по отношению к *Sr9d*, *Sr9g*, *Sr17*. Вирулентность изолятов *P. graminis* f. sp. *tritici* по отношению к *Sr9e*, *Sr11*, *Sr30* была низкой, с максимальной частотой 44.1 %, 34.2 % и 14.7 % в Омской области, соответственно. Для *Sr30* вирулентных изолятов в пробах в Алтайском крае выявлено не было. Географические образцы сильно различались по вирулентности к линиям с генами *Sr7b*, *Sr21* и *SrTmp*. В то время как образцы из Омской области были наиболее вирулентными с частотами 91.1 %, 67.7 % и 85.3 %, соответственно, образцы из Алтайского края были низковирулентными (23.5 % изолятов *P. graminis* f. sp. *tritici* инфицированы дифференциальной линией *Sr7b*) или даже авирулентными (в отношении дифференциальных линий *Sr21*, *SrTmp*).

Таблица 10. Оценка степени дифференциации географических выборок *P. graminis* f. sp. *tritici*

	Om	No	Al	CR
Om		0.107	0.242	0.316
No	0.096		0.155	0.344
Al	0.221	0.139		0.356
CR	0.293	0.294	0.299	

Примечание: над диагональю значения индекса расстояний Космана (KB_m), под — нормализованные значения индекса структурного разнообразия по Косману; диапазон значений для индекса Космана от 0 до 1.0, где 0 — отсутствие дифференциации между выборками и 1.0 — максимальная дифференциация популяций, между которыми отсутствует любой генетический обмен.

Профили генов вирулентности (их относительные частоты), определенные для каждой географической выборки западносибирской популяции (из Омской, Новосибирской областей и Алтайского края), обработали с помощью статистического пакета Космана, применяемого для работы с генотипами вирулентности и оптимизированного непосредственно для возбудителей ржавчины злаков (Kosman et al., 2019; Gulyaeva et al., 2020). Значения индекса расстояний Космана (KB_m) приведены в таблице 10, где также имеются нормализованные значения индекса структурного

разнообразия по Косману, который используется для возможности привлекать в анализ выборки с разным объемом. Получены сопоставимые с KB_m показатели при сравнении географических выборок. Для возможности получить относительную оценку рассчитаны соответствующие показатели для географической выборки из Центрального региона России.

Наибольшие значения дифференциации получены при сопоставлении профиля вирулентности удаленной выборки из Центрального региона с остальными географическими выборками, до 0.356 между алтайской выборкой и европейской ($nD(T, KW)$ 0.299). Внутри западносибирской популяции наибольшее сходство по вирулентности было обнаружено при сравнении новосибирской выборки попарно с соседними регионами (0.107 с омской выборкой и 0.155 с алтайской выборкой). Важно отметить, что отличие омской выборки от алтайской по вирулентности достигает сходного уровня дифференциации Центрального региона от географических выборок Западной Сибири (KB_m 0.242, $nD(T, KW)$ 0.221). Таким образом, степень дифференциации, оцененная с помощью индекса расстояний Космана, позволяет определить западноевропейскую популяцию *Pgt* как совокупность трех субпопуляций: омской, новосибирской и алтайской. Нормализованное значение индекса структурного разнообразия по Косману подтверждает этот вывод (табл. 10).

3.3 SSR генотипирование коллекции монопустульных изолятов

P. graminis f. sp. *tritici*

Для анализа генетического полиморфизма западносибирской популяции возбудителя стеблевой ржавчины пшеницы были подобраны 16 информативных SSR-маркеров с высокой разрешающей способностью, используемых в международных лабораториях по ржавчине для анализа изолятов *P. graminis* f. sp. *tritici* (Zhong 2009; Berlin 2012; 2017). Информация об использованных маркерах на микросателлитные локусы представлена в [Приложении 6](#).

Методом ПЦР изучен аллельный полиморфизм 16 SSR-локусов у 233 монопустульных изолятов, представляющих четыре географических выборки *P. graminis* f. sp. *tritici* на территории Российской Федерации — из Центрального региона европейской части России (CR — 110 изолятов), из Западно-Сибирского региона: Омской

области (Om — 55 изолятов), Новосибирской области (No — 56 изолятов) и Алтайского края (Al — 12 изолятов), собранных с восприимчивых сортов яровой мягкой пшеницы 2019 года.

При генотипировании монопустульных изолятов было выявлено 62 SSR генотипа, из них 25 — в Омской области, 24 — в Новосибирской области, 6 — в Алтайском крае, 7 — в Центральном регионе России (табл. 11). На Западную Сибирь приходится 55 уникальных генотипов, включая генотипы из Омской и Новосибирской областей и Алтайского края.

Таблица 11. Показатели разнообразия популяции *P. graminis* f. sp. *tritici* по микросателлитным локусам

Показатель	Популяции				
	CR	Om	No	Al	SR
Число монопустульных изолятов	110	55	56	12	123
Число SSR генотипов	7	25	24	6	49
Среднее число аллелей на SSR локус (N_a)	1.750	3.750	3.250	2.938	4.688
Число эффективных аллелей (N_e)	1.587	2.479	2.185	2.646	2.513
Индекс Шеннона (I)	0.419	0.962	0.792	0.926	0.989
Уровень наблюдаемой гетерозиготности (H_o)	0.538	0.530	0.576	0.656	0.563
Уровень ожидаемой гетерозиготности (H_e)	0.290	0.526	0.450	0.535	0.520
Индекс фиксации (F_{is})	−0.789	0.003	−0.215	−0.236	−0.036

Примечание: CR — Центральный регион России, Om — Омская область, No — Новосибирская область, Al — Алтайский край, SR — Западно-Сибирский регион России.

Всего выявлена 81 аллель; большинство из них с разной представленностью встречалось во всех четырех географических выборках. Общее число аллелей для каждого локуса варьировало от 2 до 9 (два локуса Pgestssr109 и PgtCAA80 являются слабополиморфными), размер амплифицированного локуса — в пределах 129–293 пн.

Проведен анализ изменчивости размеров аллелей для каждого локуса из всех географических выборок. Выборки из Западной Сибири статистически не различаются между собой по среднему значению разницы в размерах на локус (в Om — 16.687; No — 15.937; Al — 14.062), однако они существенно отличаются от выборки из Центрального региона (CR — 7.062) (табл. 12).

Таблица 12. Диапазон изменчивости аллелей SSR-локусов у монопустульных изолятов из географических выборок *P. graminis* f. *sp. tritici*

SSR-локус	Максимальная разность в размерах аллелей SSR-локусов в популяциях (п.о.)			
	CR	Om	No	Al
Pgestssr021	3	6	0	0
Pgestssr024	6	15	15	12
Pgestssr059	18	26	24	6
Pgestssr109	3	3	3	3
Pgestssr142	6	12	9	9
Pgestssr173	12	21	21	18
Pgestssr227	44	6	15	8
Pgestssr293	0	13	12	12
Pgestssr325	0	15	15	12
Pgestssr353	9	12	6	9
Pgestssr318	0	30	30	30
PgtCAA53	0	12	9	9
PgtCAA80	9	0	0	0
PgtCAA93	0	18	18	19
PgtCAA98	3	48	48	49
PgtGAA8	0	30	30	29
Среднее	7.062	16.687	15.937	14.062

Примечание: CR — Центральный регион, Om — Омская область, No — Новосибирская область, Al — Алтайский край.

Выявлено, что аллельное разнообразие по SSR локусам в выборке из Западной Сибири характеризуется как высокое, а в Центральном регионе — относительно небогатое (табл. 11). Три выборки из Западной Сибири характеризуются высоким аллельным разнообразием по SSR локусам. Среднее число аллелей на SSR локус (Na) в Омской области (Om) составило 3.750, в Новосибирской области (No) — 3.250, Алтайском крае (Al) — 2.938, в Центральном регионе (CR) — 1.750 (табл. 11). Таким образом, по показателям среднего генного разнообразия и числу аллелей на SSR-локус выборка из Западной Сибири отличалась большим генетическим разнообразием по сравнению с выборкой из Центрального региона. Это заключение подкрепляется максимальной разностью в размерах аллелей амплифицированных SSR-локусов среди западносибирских монопустульных изолятов (табл. 12).

Анализ полиморфизма локусов Pgestssr318, PgtCAA80, PgtCAA93, PgtCAA98 выявил генотипы с различными аллельными комбинациями в выборках Западной Сибири, в то же время, у монопустульных изолятов гриба в Центральном регионе не

обнаружено полиморфизма данных локусов, представленных одним аллелем (табл. 13). Среди всех выявленных аллелей 15 встречались с разными частотами во всех географических выборках; 28 аллелей были уникальными для той или иной выборки: Центральном регионе (CR) — 6, в Омской области (Om) — 10, в Новосибирской области (No) — 2 и в Алтайском крае (Al) — 10. Анализ частот этих аллелей показывает, что некоторые из них могут быть диагностическими, поскольку их выявление было специфическим для той или иной географической выборки (табл. 13). Например, аллели локусов Pgestssr024_265, Pgestssr173_206, Pgestssr227_175, Pgestssr227_219, PgtCAA80_189, PgtCAA93_278 были специфическими для популяции Центрального региона. Наибольший вклад в дифференциацию между тремя выборками из Западной Сибири вносят локусы Pgestssr173 и Pgestssr227.

Таблица 13. Наблюдаемые аллельные частоты 16 SSR локусов в географических выборках *P. graminis* f. *sp. tritici*

Локус	Аллель, пп	Частота аллеля в популяции			
		CR	Om	No	Al
Pgestssr021	187	0	0,682	1,000	1,000
	190	0,500	0,282	0	0
	193	0,500	0,036	0	0
Pgestssr024	259	0	0,109	0,107	0,208
	262	0	0,127	0	0
	265	0,045	0	0	0
	268	0	0,318	0,455	0,292
	271	0,955	0,391	0,384	0,500
	274	0	0,055	0,054	0
Pgestssr059	210	0,500	0,127	0,384	0
	225	0	0,345	0,027	0
	228	0,500	0,273	0,277	0,208
	231	0	0,236	0,250	0,417
	234	0	0	0,063	0,375
	235	0	0,009	0	0
	236	0	0,009	0	0
Pgestssr109	232	0,391	0,673	0,768	0,708
	235	0,609	0,327	0,232	0,292
Pgestssr142	167	0,500	0,473	0,277	0,292
	169	0	0,018	0	0
	170	0	0,091	0,196	0,375
	173	0,500	0,255	0,473	0,208
	176	0	0	0,054	0,125
	179	0	0,164	0	0

Локус	Аллель, пн	Частота аллеля в популяции			
		CR	Om	No	Al
Pgestssr173	173	0	0,127	0,036	0,208
	187	0	0,145	0	0
	188	0	0,218	0,464	0,292
	190	0	0	0	0,208
	191	0	0,291	0,464	0,292
	194	0,500	0,218	0,036	0
	206	0,500	0	0	0
Pgestssr227	175	0,036	0	0	0
	188	0	0	0,071	0
	189	0	0	0	0,208
	191	0	0,655	0,464	0,208
	192	0	0	0	0,208
	194	0,455	0,182	0	0
	197	0	0,164	0,446	0,375
	203	0,455	0	0,018	0
	219	0,055	0	0	0
Pgestssr293	257	1,000	0,427	0,250	0,167
	263	0	0,055	0	0
	266	0	0,373	0,357	0,417
	269	0	0,109	0,393	0,417
	270	0	0,036	0	0
Pgestssr325	247	0	0,209	0,321	0,417
	256	0	0,173	0,357	0,333
	259	1,000	0,573	0,268	0,250
	262	0	0,045	0,054	0
Pgestssr353	140	0,500	0,700	0,821	0,583
	146	0	0,018	0	0
	149	0,500	0,118	0,143	0,417
	152	0	0,164	0,036	0
Pgestssr318	198	1,000	0,364	0,446	0,292
	199	0	0	0	0,208
	208	0	0	0	0,208
	210	0	0,445	0,482	0,167
	211	0	0	0,018	0
	228	0	0,191	0,054	0,125
PgtCAA53	201	0	0,200	0,089	0,125
	210	1,000	0,655	0,911	0,875
	213	0	0,145	0	0
PgtCAA80	189	0,500	0	0	0
	198	0,500	1,000	1,000	1,000
PgtCAA93	274	0	0	0	0,208

Локус	Аллель, пп	Частота аллеля в популяции			
		CR	Om	No	Al
	275	0	0,964	0,973	0,583
	278	1,000	0	0	0
	292	0	0	0	0,208
	293	0	0,036	0,027	0
PgtCAA98	201	0	0	0	0,208
	202	0	0,055	0,054	0
	220	0	0,055	0,036	0
	238	0,500	0,445	0,464	0,500
	241	0,500	0,055	0,036	0
	250	0	0,391	0,411	0,292
PgtGAA8	129	0	0,200	0,321	0,375
	147	1,000	0,655	0,464	0,208
	149	0	0	0	0,208
	150	0	0,073	0,107	0
	158	0	0	0	0,208
	159	0	0,073	0,107	0

Примечание: CR — Центральный регион, Om — Омская область, No — Новосибирская область, Al — Алтайский край.

Эффективное число аллелей (N_e) в выборках Центрального региона было ниже, чем в выборках Западной Сибири (1.587 и 2.513, соответственно) (табл. 11). В свою очередь, эффективное число аллелей в омской, новосибирской и алтайской выборках было в пределах одного значения (2.479, 2.185, 2.646, соответственно) (табл. 11). Уровень наблюдаемой гетерозиготности (H_o) был выше уровня ожидаемой (H_e) в Центральном регионе по сравнению с Западной Сибирью. Однако для выборки из Омской области разница между наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготностью стремилась к нулю. В выборке Центрального региона H_o и H_e статистически не отличалась только в случае локуса Pgestssr024, а для шести локусов гетерозиготность была равна нулю. В выборке из Омской области H_o и H_e статистически не отличаются для 10 локусов (Pgestssr021, Pgestssr024, Pgestssr059, Pgestssr109, Pgestssr173, Pgestssr293, Pgestssr325, Pgestssr353, PgtCAA93, PgtGAA8), а гетерозиготность была равна нулю в одном случае. В выборке из Новосибирской области H_o и H_e статистически не отличаются для шести локусов (Pgestssr059, Pgestssr142, Pgestssr293, Pgestssr325, Pgestssr353, PgtCAA53, PgtCAA93), а гетерозиготность была равна нулю в двух случаях. В выборке из Алтайского края H_o и H_e статистически не отличаются для пяти локусов (Pgestssr109, Pgestssr142, Pgestssr227,

PgtCAA93, PgtGAA8), а гетерозиготность была равна нулю в двух случаях. Во всех остальных случаях H_o значительно выше, чем H_e , что указывает на избыток гетерозигот.

Индекс фиксации для выборок Западно-Сибирского региона был отрицательным ($F_{is} = -0.215$ и -0.236) за исключением омской выборки ($F_{is} = 0.003$). Согласно полученным данным, мы можем предположить, что в Омской области роль полового процесса в формировании изменчивости гриба имеет высокое значение.

Оценка внутривидового разнообразия SSR-генотипов проводилась на основе индекса видового разнообразия Шеннона (H'), где среднее генотипическое разнообразие было сходным у монопустульных изолятов из Западной Сибири ($H' = 0.989$), в отличие от данных из Центрального региона ($H' = 0.419$).

Согласно индексам генетических расстояний (F_{ST} , R_{ST}) значительной генетической обособленности выборок монопустульных изолятов из Западной Сибири не выявлено (табл. 14). Низкое значение F_{ST} свидетельствует о слабой дифференциации генетических выборок. Наибольшие различия наблюдаются между западносибирскими выборками и удаленной выборкой из Центрального региона ($F_{ST} = 0.248$; $R_{ST} = 0.972$).

Таблица 14. Показатели генетических расстояний между выборками *P. graminis* f. sp. *tritici*, рассчитанные на основе полиморфизма микросателлитных локусов

CR	Om	No	Al	
	0,390	0,361	0,531	CR
0,395		0,029	0,069	Om
0,473	0,070		0,103	No
0,500	0,110	0,080		Al

Примечание: Под диагональю — критерий F_{ST} , над диагональю — индекс R_{ST} .

На основе бинарной матрицы различий для 16 SSR локусов у четырех географических выборок монопустульных изолятов (CR, Om, No и Al) была построена дендрограмма генетического родства мультилокусных SSR-генотипов, на которой наряду со смешанными кластерами присутствуют кластеры, состоящие из монопустульных изолятов одного региона (рис. 7). Так, все изоляты из Центрального региона объединились на уровне 2.0 условных единиц генетических дистанций в один кластер А с высокой достоверностью (индекс бутстрепа 100). Кластер В сформирован изолятами из Омской области (Om_36, 37, 38, 39, 42, 43, 44, 45, 54, 55), объединяющихся по сходству мультилокусных SSR генотипов на уровне 4.4 условных единиц генетических дистанций.

Сложный кластер С является самым крупным с наименьшим уровнем достоверности (индекс бутстрепа 20, объединение на уровне 4.9 условных единиц генетических дистанций). Он собирает изоляты из трех западносибирских популяций, которые внутри объединены в смешанные группы по сходству мультилокусных SSR генотипов. С монопустульными изолятами из Омской области группируется часть изолятов из Новосибирской области, а монопустульные изоляты из Алтайского края демонстрируют наибольшее родство с изолятами из Новосибирской области. Отдельный кластер, с высоким значением бутстрепа 100, был сформирован изолятами из Алтайского края (Al_1–Al_5). Эта группа изолятов обладала SSR профилем максимально отличным от всей выборки (на уровне 6.0 условных единиц генетической дистанции). Можно с уверенностью предположить экзогенное происхождение инфекционного материала, из которого были выделены монопустульные изоляты Al_1–Al_5.

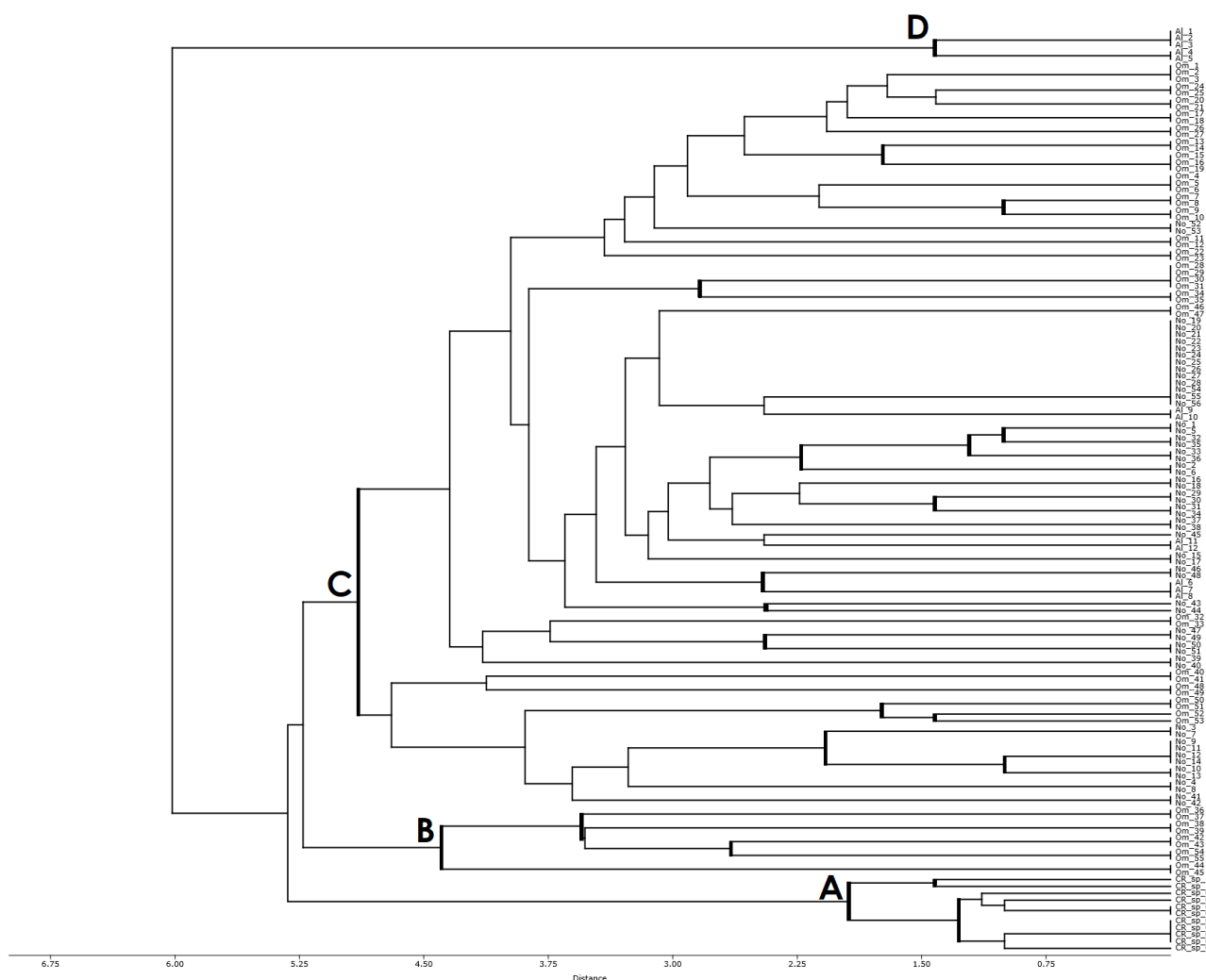


Рисунок 7. Кладограмма, построенная методом UPGMA (генетические дистанции Simple matching) по молекулярным паттернам микросателлитных маркеров *P. graminis* f. sp. *tritici*, выделенных из образцов инфекции: CR — Центральный регион, Om — Омская область, No — Новосибирская область, Al — Алтайский край. Буквы А, В, С, D обозначают группы близкородственных мультилокусных генотипов *P. graminis* f. sp. *tritici*, пояснения в тексте. Жирным выделены клады поддержанные высокими индексами бутстрепа (более 50 %).

Исследование генетической структуры *P. graminis* f. sp. *tritici* на основе алгоритма STRUCTURE позволило предположить, что наиболее правильной с точки зрения логарифмической функции правдоподобия будет дифференциация при $K = 2$ ([Приложение 8](#)). Видно, что все изоляты из Центрального региона сгруппировались в одном кластере (кластер 1, рис 8), а изоляты Западно-Сибирского региона в другом (кластер 2, рис. 8). Исходя из полученных данных можно заключить, что существует две независимые популяции с индивидуальным происхождением.

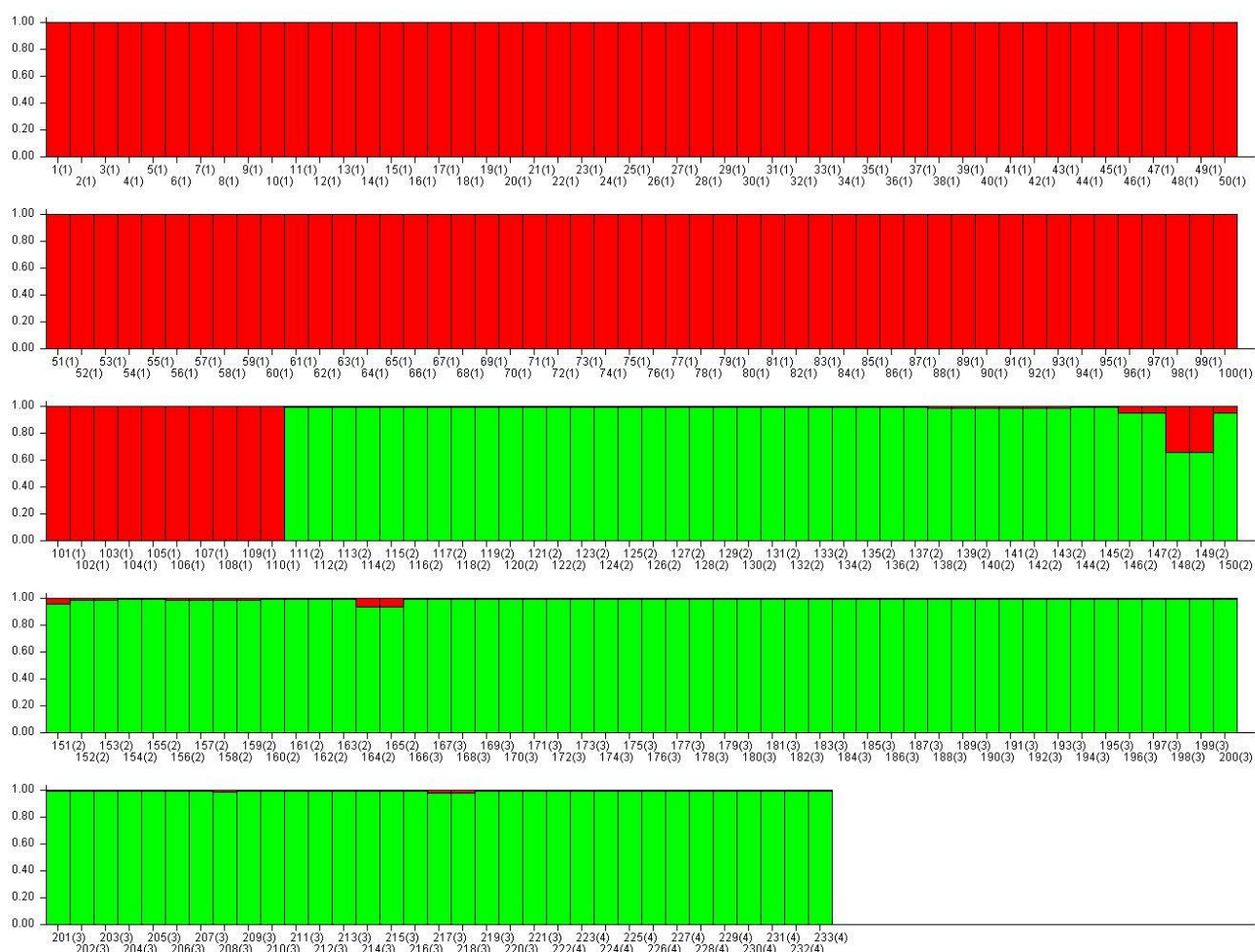


Рисунок 8. Популяционная структура гриба *P. graminis* f. sp. *tritici*, рассчитанная на основании генотипирования 16 SSR-маркеров. На вертикальной оси обозначены коэффициенты принадлежности образца к субкластеру. Столбцы 1–110: образцы из Центрального региона, столбцы 111–233: образцы из Западно-Сибирского региона.

Анализ главных компонент (PCA), основанный на подсчете частот SSR-аллелей, подтвердил дифференциацию экспериментальных форм на две группы подобия (рис. 9). В результате, при вычленении основных влияющих факторов в различные координатные плоскости соотнесены группы выборок из Центрального региона и Западной Сибири.

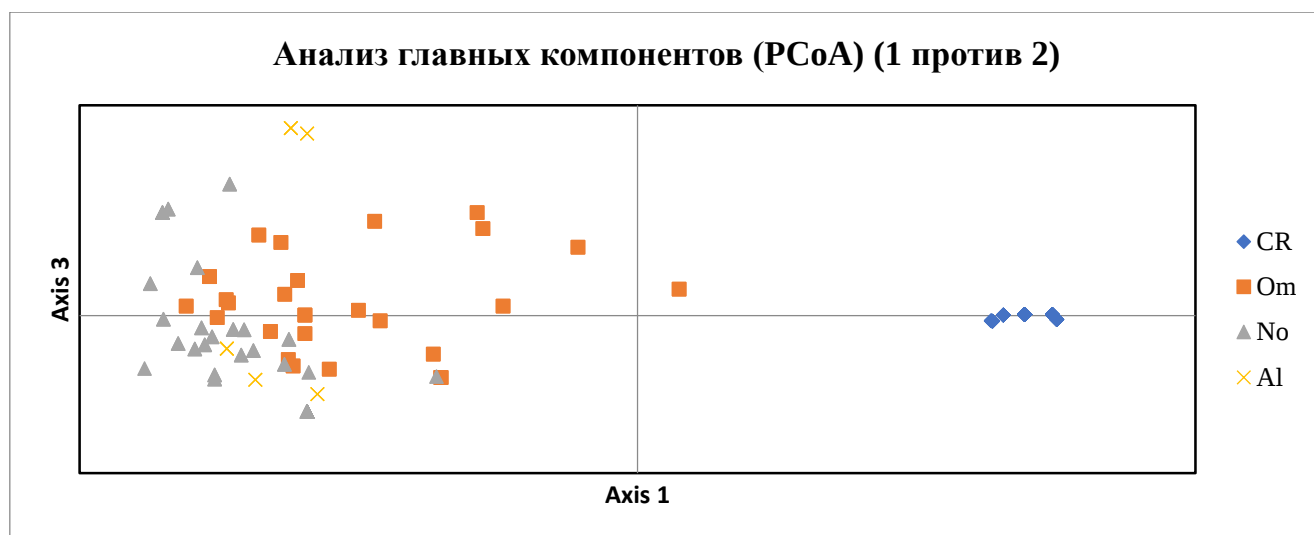


Рисунок 9. Анализ главных компонент (PCA) структуры популяций *P. graminis* f. sp. *tritici* на основании оценки результатов SSR генотипирования. Условные обозначения: CR — Центральный регион России; Om — Омская область; No — Новосибирская область; Al — Алтайский край.

Анализ полиморфизма SSR-локусов в качестве селективно-нейтральных маркеров впервые выявил дифференциацию географических выборок *P. graminis* f. sp. *tritici* из Центрального региона и Западной Сибири. Отсутствие общих SSR генотипов между выборками популяций *P. graminis* f. sp. *tritici* указывает на слабый уровень генетического потока между ними.

3.4 Иммуногенетический анализ селекционных линий и сортов мягкой пшеницы

3.4.1 Разрешающая способность молекулярных маркеров, разработанных для генов *Sr*

Первостепенной задачей стояла оценка разрешающей способности однозначных доминантных и кодоминантных молекулярных маркеров идентифицировать гены устойчивости *Sr* к возбудителю стеблевой ржавчины у 131 селекционных образцов яровой мягкой пшеницы ИЦиГ СО РАН ([Приложение 4](#)).

Для расширения диагностической панели мы использовали рекомендованные для маркер-вспомогательной селекции 29 ДНК-маркеров на 19 генов устойчивости, эффективных в условиях Западной Сибири (*Sr2*, *Sr15*, *Sr21*, *Sr22*, *Sr23*, *Sr24*, *Sr25*, *Sr28*, *Sr31*, *Sr32*, *Sr33*, *Sr35*, *Sr36*, *Sr38*, *Sr39*, *Sr44*, *Sr45*, *Sr57* и *Sr6Ai#2*) ([URL: https://maswheat.ucdavis.edu/protocols/stem_rust_protocols](https://maswheat.ucdavis.edu/protocols/stem_rust_protocols)). Для каждого маркера отработали условия стабильной амплификации диагностических фрагментов на ДНК-матрицах позитивных контролей. Из протестированных ДНК-маркеров только 18 дали ожидаемый результат по положительным и отрицательным контролям.

Гены *Sr2*, *Sr15*, *Sr22*, *Sr23*, *Sr25*, *Sr31*, *Sr57* и *Sr6Ai#2* в различных комбинациях идентифицированы у сортов и линий пшеницы ИЦиГ СО РАН. Констатировано присутствие генов устойчивости в 71 сорте (табл. 15).

Таблица 15. Количество идентифицированных сортов/линий коллекции яровой мягкой пшеницы ИЦиГ СО РАН с генами устойчивости к грибным заболеваниям

Гены	Количество образцов ИЦиГ СО РАН
<i>Sr2</i> ¹	63
<i>Sr2</i> ²	не обнаружено
<i>Sr15/Lr20/Pm1</i>	3
<i>Sr22</i>	59
<i>Sr23/Lr16</i>	3
<i>Sr24/Lr24</i>	не обнаружено
<i>Sr25/Lr19</i>	4
<i>Sr26</i>	не обнаружено
<i>Sr31/Lr26/Yr9</i>	10
<i>Sr35</i>	не обнаружено
<i>Sr36</i>	не обнаружено
<i>Sr38/Lr37/Yr17</i>	не обнаружено
<i>Sr39/Lr35</i>	не обнаружено
<i>Sr44</i>	2
<i>Sr45</i>	не обнаружено

Гены	Количество образцов ИЦиГ СО РАН
<i>Sr57/Lr34/Yr18/Pm38</i>	11
<i>Sr6Ai#2</i>	6

Примечание: *Sr2*¹ — SSR-маркер; *Sr2*² — KASP-маркер.

На единичные гены *Sr2*, *Sr22* и *Sr44* приходится 77 % от общего числа обнаруженных генотипов с генами устойчивости. Распределение количества единичных и в комбинации генов на один генотип представлено в таблице 16.

Таблица 16. Количество единичных и в комбинациях генов *Sr* в селекционном материале ИЦиГ СО РАН

	Количество единичных и в комбинациях генов					
	0	1	2	3	4	5
Количество образцов	31	56	33	9	3	0
%	23.5	42.4	25.0	6.8	2.7	

3.4.2 Полевая оценка селекционных линий и сортов мягкой пшеницы на устойчивость к *P. graminis* f. sp. *tritici* в условиях южной лесостепи Западной Сибири

Полевой анализ восприимчивости к возбудителю стеблевой ржавчины коллекции сортов и линий яровой мягкой пшеницы ОмГАУ проводился на инфекционном фоне в Сибирском челночном питомнике (СПЧС), Омск, в период 2018–2019 годы. Полевая оценка, проведенная в 2018 и 2019 годах, представлена в [Приложении 3](#).

Выбор тестируемых образцов пшеницы обуславливался, в первую очередь, поиском доноров устойчивости к возбудителю стеблевой ржавчины, представленном в Западно-Сибирском регионе.

В 2018–2019 годах на территории Омской области сложились нестандартные метеорологические условия для возделывания пшеницы. Первый период вегетации был благоприятный для растений, но второй этап был более засушливый. В самый важный период развития растений (июнь и первая декада июля) наблюдалась низкая температура воздуха с обильными осадками, что привело к формированию излишней биомассы растений и длительной вегетации. Высокое количество осадков, порывистые ветры, повышенная влажность воздуха, всё это способствовало сильному полеганию растений и, тем самым, активному развитию возбудителя стеблевой ржавчины. Однако оценка пшеницы в 2020 году не была проведена, так как в регионе в период вегетации пшеницы

держались высокие положительные температуры с низким количеством осадков, что препятствовало развитию инфекции.

Анализ результатов двухлетних полевых испытаний на устойчивость пшеницы в Омской области показал, что наиболее полная оценка была проведена в 2019 году, когда в регионе сложились благоприятны климатические условия для развития инфекции. Оценка вирулентности восприимчивого сорта Памяти Азиева составила 100S, что свидетельствует о высоком уровне инфекции для проведения достоверной оценки реакций растений.

Тяжесть заболевания растений в питомнике СПЧС определяли по модифицированной шкале Кобба (Peterson et al., 1948). В ходе полевых испытаний были идентифицированы четыре группы фенотипов, включая восприимчивую, умеренно восприимчивую, умеренно устойчивую и устойчивую. Среди 80 протестированных образцов только 41 % выражали восприимчивую или умеренно восприимчивую реакцию, а 57 % были устойчивыми или умеренно устойчивыми генотипами (рис. 10).

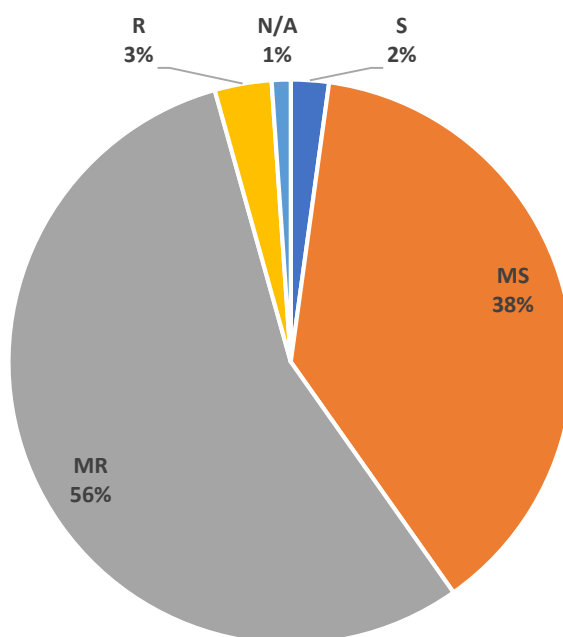


Рисунок 10. Распределение генотипов яровой мягкой пшеницы с разным типом устойчивости к *P. graminis* f. sp. *tritici* в полевых испытаниях, Омск, 2019 (R — устойчивая реакция; MR — умеренно устойчивая; MS — умеренно восприимчивая; S — восприимчивая; N/A — нет данных).

Мы применили дисперсионный анализ с апостериорными тестами для оценки расстояний между группами S–MR, R–MS, S–MS, S–R, R–MR и MS–MR ответ на инфекцию (табл. 17 и 18).

Таблица 17. Результаты дисперсионного анализа

	DF	SS	MS	F value	p
Group	3	8120	2706.7	19.77	7.36e-10
Residuals	87	11913	136.9		

Примечание: DF, degrees of freedom; SS, total sum of squares; MS, mean squares; F value, F ratio; p, P-value.

Таблица 18. Различия между средними значениями полевых оценок

Группы образцов с устойчивостью	diff	lwr	upr	p adj
MS–MR	5.41	–1.58	12.4	0.19
R–MR	–15.11	–33.26	3.05	0.14
S–MR	59.89	37.84	81.95	0.00
R–MS	–20.52	–39.11	–1.93	0.03
S–MS	54.48	32.07	76.89	0.00
S–R	75.00	47.02	102.98	0.00

Примечание: diff, difference; lwr, lower; upr, upper; p adj, p-value adjustment. R — устойчивая реакция; MR — умеренно устойчивая; MS — умеренно восприимчивая; S — восприимчивая; N/A — нет данных

Основываясь на статистически значимых различиях (до 75,00 diff при $p < 0,05$), мы выделили 53 образца с устойчивостью R–MR (табл. 19). Инфекционные типы для этих образцов варьировали от «0» до «2+», за исключением «3–» для Лютесценс 90–18. Образцы с устойчивостью R–MR рассматриваются нами как перспективный сельскохозяйственный генофонд, представляющий наибольший интерес для селекции на иммунитет.

Таблица 19. Панель устойчивых к *P. graminis* f. sp. *tritici* сортов и линий яровой мягкой пшеницы в Омской области

Группа	#	Сорта/линии	Полевая оценка (2019)	Оценка проростков MTMTC (IT)	Идентификация генов с помощью молекулярных маркеров	Гены, ожидаемые от родословной GRIS ¹
1	3	Нива 55	5MR	1/R	<i>Sr2, Sr23, Sr24, Sr31</i>	<i>Sr31, Sr24</i>
2	7	Эритроспермум 37–18	5MR	0/R	<i>Sr2, Sr44, Sr57</i>	
3	8	Эритроспермум 39–18	5MR	1/R	<i>Sr44, Sr57</i>	<i>Sr57</i>
	12	Эритроспермум 40–18	R	1/R		
	53	Эритроспермум 36–18	5MR	2/R		
4	9	Эритроспермум 81–19	10MR	;R	<i>Sr2, Sr57</i>	<i>Sr57</i>
	11	Эритроспермум 83–19	5MR	1/R		
	30	Лютесценс 18–19	10MR	0/R		
5	10	Эритроспермум 87–19	5MR	1/R	<i>Sr22, Sr44, Sr57</i>	<i>Sr23, Sr57</i>
6	13	Эритроспермум 36–18	5MR	1/R	<i>Sr57</i>	
7	14	Лютесценс 38–19	30MR	1+/R	не идентифицировано	
	47	Лютесценс 123–13	25MR	1/R		<i>Sr23, нет Sr57</i>
8	18	Лютесценс 12–19	20MR	2+/MR	<i>Sr44</i>	
9	19	Лютесценс 9–18	10MR	1/R	<i>Sr31, Sr44</i>	
	85	Л70/06–4	20MR	1/R		<i>Sr31</i>
10	20	Лютесценс 59–18	10MR	;R	<i>Sr2, Sr31, Sr44</i>	
	22	Лютесценс 58–18	15MR	1/R		
	37	Лютесценс 24–19	20MR	1/R		
	44	Эритроспермум 4–16	5MR	1/R		
11	21	Лютесценс 95–18	5MR	1/R	<i>Sr2, Sr22, Sr31, Sr44</i>	
	39	Лютесценс 21–19	40MR	2/R		
12	26	Эритроспермум 44–18	10MR	0/R	<i>Sr2, Sr31, Sr44, Sr57</i>	
13	27	Лютесценс 22–18	10MR	2/R	<i>Sr2, Sr25, Sr44</i>	
14	29	Эритроспермум 28–19	50MR	1/R	<i>Sr31</i>	<i>Sr31</i>
	31	Элемент 22 (st)	10MR	1/R		<i>Sr31, Sr35</i>
	32	ОмГАУ 100	10MR	1/R		<i>Sr31</i>
	36	Эритроспермум 22–19	40MR	1/R		

Группа	#	Сорта/линии	Полевая оценка (2019)	Оценка проростков MTMTC (IT)	Идентификация генов с помощью молекулярных маркеров	Гены, ожидаемые от родословной GRIS ¹
	41	Лютесценс 34–17	10MR	1/R		
	55	Эритроспермум 96–15	10MR	1/R		
	79	KS 115/09–1	20MR	2/R		<i>Sr31</i>
15	33	Силантий	10MR	1/R	<i>Sr2</i>	<i>Sr23</i>
16	34	Лютесценс 12–18	20MR	2/R	<i>Sr2, Sr22, Sr38</i>	<i>Sr5, Sr6, Sr7a, Sr8a, Sr9g, Sr12, Sr57</i>
17	40	Эритроспермум 53–15	15MR	1/R	<i>Sr15, Sr44</i>	
18	42	Эритроспермум 28–18	5MR	1/R	<i>Sr22, Sr31</i>	
19	43	Лютесценс 90–18	15MR	3–/MR	<i>Sr2, Sr22, Sr44</i>	
20	77	Эритроспермум 79/07	R	1/R	<i>Sr38, Sr44</i>	<i>Sr38</i>
21	48	Лютесценс 126–15	15MR	;/R	<i>Sr22, Sr31, Sr57</i>	
22	89	9–31	20MR	2+/R	<i>Sr2, Sr22, Sr38, Sr44</i>	
	90	8–26	20MR	2/R		
23	51	Лютесценс 89–18	10MR	2/R	<i>Sr22, Sr23, Sr31, Sr44, Sr57</i>	
24	52	Эритроспермум 40–18	R	1/R	<i>Sr22, Sr57</i>	
25	54	Лютесценс 35–18	10MR	1/R	<i>Sr25, Sr31</i>	
	82	Линия 1616ae14	20MR	1/R		<i>Sr25, Sr31</i>
26	58	Эритроспермум 5–17	10MR	2–/R	<i>Sr25, Sr44</i>	
27	78	Лютесценс ШТ-335	20MR	2/R	<i>Sr24, Sr31</i>	<i>Sr24, Sr31</i>
28	80	KS 161/08–2p	20MR	1/R	<i>Sr31, Sr57</i>	<i>Sr31, Sr57</i>
29	81	KS 111/09–2	20MR	1/R	<i>Sr22, Sr31, Sr44</i>	<i>Sr31</i>
30	83	Линия 1617ae9	30MR	1/R	<i>Sr2, Sr25, Sr31, Sr44</i>	<i>Sr25</i>
31	84	Лютесценс 417/10–5	20MR	1/R	<i>Sr23, Sr31</i>	<i>Sr31</i>
32	86	Л14/10–14	10MR	1/R	<i>Sr25, Sr31, Sr44</i>	<i>Sr25, Sr31</i>
33	87	Линия 375	10MR	;/R	<i>Sr22, Sr25, Sr31, Sr44</i>	
34	88	Челяба 80	30MR	2/R	<i>Sr2, Sr44</i>	
35	92	2–10	20MR	2/R	<i>Sr2, Sr22, Sr57</i>	

Примечание: GRIS¹, веб-сайт Информационной системы по генетическим ресурсам пшеницы и тритикале (GRIS – URL: <http://wheatpedigree.net/>).

3.4.3 Генотипирование селекционных линий и сортов мягкой пшеницы ДНК-маркерами на гены *Sr*

Проведено генотипирование коллекции селекционных линий и сортов яровой мягкой пшеницы ОмГАУ на гены устойчивости к возбудителю стеблевой ржавчины (*Sr2*, *Sr15*, *Sr22*, *Sr23*, *Sr24*, *Sr25*, *Sr31*, *Sr35*, *Sr36*, *Sr38*, *Sr39*, *Sr44*, *Sr45*, *Sr57* и *Sr6Ai#2*) с помощью молекулярных MAS-маркеров (табл. 12). Результаты генотипирования коллекции представлены в [Приложении 5](#).

Генетическая устойчивость коллекции, которая входит в группу образцов с устойчивостью R и MR, имеет высокую степень вариативности (табл. 17). Мы сосредоточили свое внимание на генах *Sr*, особенно важных для мировой селекции на устойчивости: это генотипы с *Sr31* или *Sr24* (неэффективных против рас семейства Ug99) и *Sr25* или *Sr44* (эффективных против рас семейства Ug99), которые были разделены на 27 групп (из 35 групп) на основе данных генотипирования (табл. 13). Среди всех групп выделяется крупная группа образцов с одним геном (*Sr31*), состоящая из 7 образцов.

Комбинация генов *Sr31* и *Sr44* идентифицирована в 14 образцах. Обнаружено 16 образцов с групповой устойчивостью, несущих *Sr31* с различной комбинацией генов *Sr* (до 5 генов). Всего было обнаружено 19 групп несущие ген *Sr44* с другими генами *Sr*. Ген *Sr31* по отдельности или вместе с другими генами устойчивости был обнаружен в 30 образцах, а ген *Sr44* — в 43 образцах. Гены *Sr24* и *Sr25* встречались реже, в основном в комплексе. Ген *Sr2* и *Sr57* были идентифицированы в 21 образце, в комбинации с *Sr31* или *Sr44*. Для Лютесценс 38-19 (образец № 14) и Лютесценс 123–13 (образец № 47) не были идентифицированы гены устойчивости с помощью молекулярных маркеров, используемых для генотипирования в этом исследовании.

3.4.4 Фитопатологический анализ селекционных линий и сортов мягкой пшеницы на стадии проростков

Для анализа ювенильной устойчивости линий и сортов яровой мягкой яровой пшеницы ОмГАУ в условиях лаборатории использован тестерный высоковирулентный изолят *P. graminis* f. sp. *tritici* Pgt_Omsk_19_7 с наибольшей частотой встречаемости среди омской выборки в период наблюдений 2019–2020 годы. Он представляет собой расой МТМТС, отличающиеся высокой вирулентностью (табл. 20), и имеет гены *Avr24*,

Avr31 и *Avr38*, с помощью которых можно проверить присутствие генов *Sr24*, *Sr31* и *Sr38* в генотипе пшеницы ([Приложение 10](#)), инфекционные типы изолята представлены в [Приложении 11](#).

Таблица 20. Фенотип авирулентности/вирулентности *P. graminis* f. sp. *tritici* расы МТМТС (изолят: Pgt_Omsk_19_7)

Раса <i>P. graminis</i> f. sp. <i>tritici</i>	Авирулентность к генам <i>Sr</i>	Вирулентность к генам <i>Sr</i>
МТМТС	21, 9e, 9b, 30, 24, 31, 38 дополнительный набор: 15, 22, 25, 44	5, 6, 7b, 8a, 11, 9g, 36, 17, 9a, 9d, 10, Tmp, McN

Эталоном для оценки фенотипического проявления идентифицированных генов *Sr* служили инфекционные типы, проиллюстрированные в справочнике Макинтоша (1995), широко использующегося при анализе инфекционных типов стеблевой ржавчины на мягкой пшенице (рис. 4).

Гены *Sr31* и *Sr24* были подтверждены инфекционными типами «1» и «;1», полученными после заражения тестерной расой, для всех линий и сортов с устойчивостью R и MR, положительно генотипированных с помощью молекулярных маркеров (табл. 19).

Инфекционные типы на проростках Лютесценс 12-18 (образец № 34) и линиях 9-31 и 8-26 (образцы № 89 и № 90) соответствовали классическому проявлению устойчивости гена *Sr38*, экспрессирующего умеренную устойчивость на стадии проростков «2» или «2+» (рис. 11). Проявление высокой устойчивости («;1») растений сорта Эритроспермум 79/07 (образец №77) с геном *Sr38* мы склонны объяснить эффектом неаллельного взаимодействия генов, полимерией, усиливающей признак устойчивости, либо благодаря присутствию в генотипе *Sr44*, либо других генов, которые не были идентифицированы с помощью молекулярных маркеров.

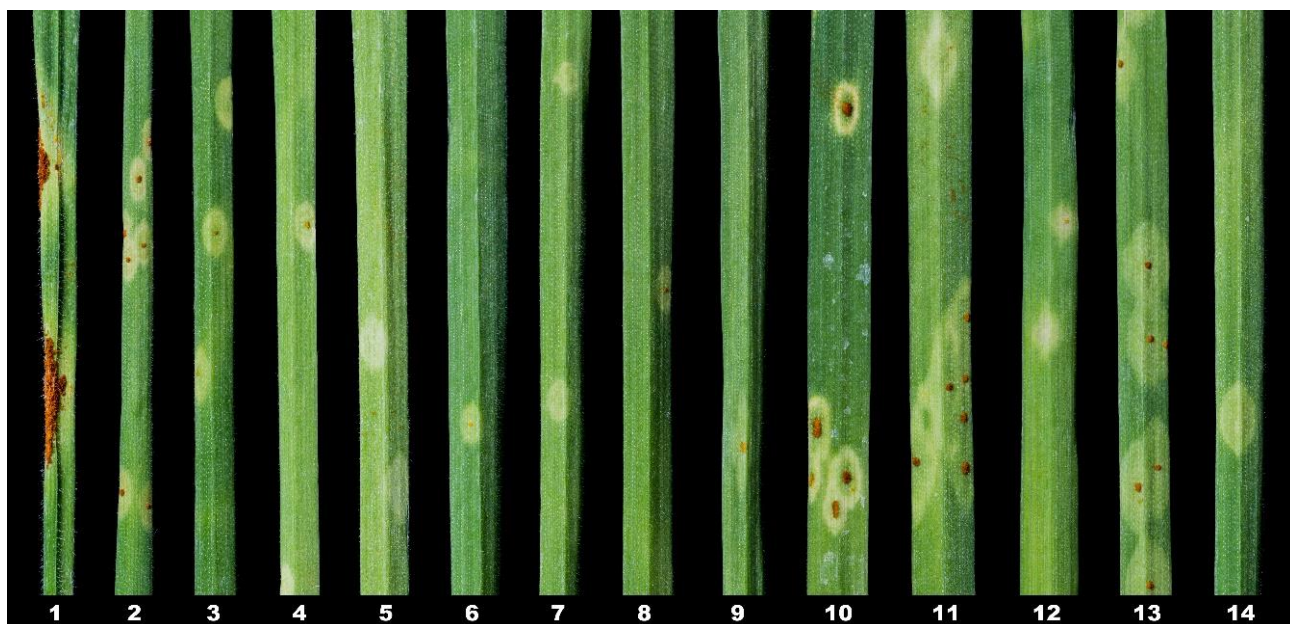


Рисунок 11. Инфекционные типы расы MTMTС *P. graminis* f. sp. *tritici* на проростках пшеницы (образцы с устойчивостью R и MR). Растения на стадии проростков: 1 — Хакасская (IT = «4»); 2 — Нива (IT = «;1»); 3 — Лютесценс 9-18 (IT = «;1»); 4 — Лютесценс 95-18 (IT = «;1»); 5 — Лютесценс 58-18 (IT = «;1»); 6 — Эритроспермум 28-19 (IT = «;1»); 7 — Элемент 22 (IT = «;1»); 8 — ОмГАУ 100 (IT = «;1»); 9 — Лютесценс 12-18 (IT = «2»); 10 — 9-31 (IT = «2+»); 11 — 8-26 (IT = «2+»); 12 — Эритроспермум 79/07 (IT = «;1»); 13 — Лютесценс 38-19 (IT = «2+»); 14 — Лютесценс 123-13 (IT = «;1»).

Для селекционных линий Лютесценс 38-19 (образец № 14) и Лютесценс 123-13 (образец № 47) была описана специфическая устойчивость к возбудителю стеблевой ржавчины на стадии проростков (ювенильная устойчивость) по инфекционным типам в виде крошечных пустул с обширными участками некроза вокруг. Однако в соответствующих генотипах не было выявлено генов *Sr* с помощью молекулярных маркеров. Опираясь на формулу «ген-на-ген» взаимодействия растений пшеницы и тестерной расы гриба, для селекционных линий: Лютесценс 38-19 (образец № 14) и Лютесценс 123-13 (образец № 47) — эмпирически можно предположить носительство генов *Sr21*, *Sr9e*, *Sr9b* или *Sr30*.

3.5 Расширенный иммуногенетический анализ селекционных линий мягкой пшеницы с транслокацией 2NS/2AS

Селекционная ценность транслокации 2NS/2AS состоит в том, что она несёт гены устойчивости *Lr37* и *Yr17*, которые сохраняют устойчивость к западносибирским популяциям возбудителей бурой и желтой ржавчины (Skolotneva et al., 2018; Гульяева,

Поиск источников гена *Sr38* среди селекционного материала ОмГАУ (92 генотипа) выполнен с помощью молекулярного маркера на транслокацию 2NS/2AS. Постулирование данной транслокации проведено путем генотипирования с помощью специфической пары праймеров (VENTRIUP-LN2) и фитопатологического тестирования авирулентными клонами гриба *P. graminis* f. sp. *tritici* сибирского региона.

С помощью ПЦР-анализа подтвержден положительный сигнал в исследуемых образцах, соответствующий диагностическому фрагменту размером 259 п.н. Идентифицировано семь сортов и линий пшеницы, несущих транслокацию 2NS/2AS: Лютесценс 12-18, Лютесценс 34-16, Лютесценс 81-17, Лютесценс 66-16; Эритроспермум 79/07, 9-31, 8-26 (рис. 12).

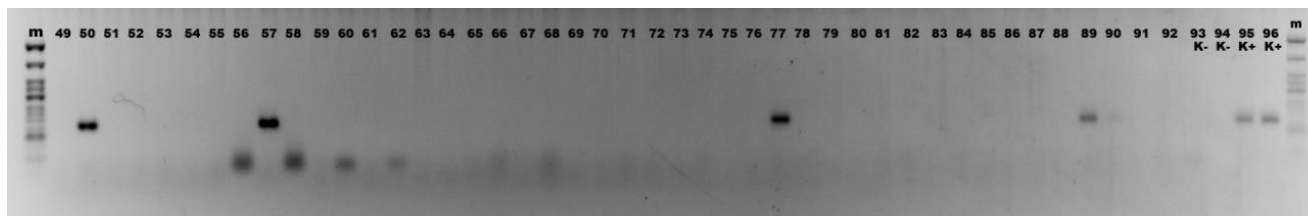


Рисунок 12. Электрофореграмма продуктов амплификации молекулярных маркеров к гену *Sr38* на ДНК матрицах яровой мягкой пшеницы из коллекции селекционных сортов и линий ОмГАУ. Арабскими цифрами обозначены образцы: 49 — Лютесценс 76-17; 50 — Лютесценс 81-17; 51 — Лютесценс 89-18; 52 — Эритроспермум 40-18; 53 — Эритроспермум 36-18; 54 — Лютесценс 35-18; 55 — Эритроспермум 96-15; 56 — Лютесценс 89-15; 57 — Лютесценс 66-16; 58 — Эритроспермум 5-17; 59 — К-81; 60 — К-1593; 61 — К-11750; 62 — К-17983; 63 — К-18617; 64 — К-21582; 65 — К-23647; 66 — К-23652; 67 — К-23653; 68 — К-34583; 69 — К-35890; 70 — К-40170; 71 — 3173; 72 — 3202; 73 — 3238; 74 — 3245; 75 — 3297; 76 — (4-2)BC1F4; 77 — Эритроспермум 79/07; 78 — Лютесценс ШТ-335; 79 — KS 115/09-1; 80 — KS 161/08-2p; 81 — KS 111/09-2; 82 — Линия1616ae14; 83 — Линия 1617ae9; 84 — Лютесценс 417/10-5; 85 — Л70/06-4; 86 — Л14/10-14; 87 — Линия 375; 88 — Челябинс 80; 89 — 9-31; 90 — 8-26; 91 — 6-19; 92 — 44106; 93 — Хакасская; 94 — Morocco; 95 — TcLr37; 96 — TcLr37.

В таблице 21 приведена родословная сортов и линий яровой мягкой пшеницы из коллекции ОмГАУ. Анализ родословной обращает на себя внимание высокой степенью

различия предполагаемых носителей гена *Sr38*, что составляет потенциальную ценность материала в качестве разнообразных доноров устойчивости.

Таблица 21. Родословная некоторых сортов и линий яровой мягкой пшеницы из западносибирской коллекции ОмГАУ

Сорт/линия	Родословная
Лютесценс 12-18	MN6616M/3/NL456/VEE#5// DUCULA/4/KARAGANDINSKAYA 70
Лютесценс 34-16	OMSKAYA 36/BAVIS//TERTSIYA
Лютесценс 81-17	ERITROSPERMUM 55-94-01- 20/5/PYN/BAU/3/MON/IMU//ALD/ PVN/4/VEE#5/SARA//DUCULA/6/FITON 42
Лютесценс 66-16	27.90.98.3/3/KA/NAC//TRCH/4/ALTAYSKAYA 530
Эритроспермум 79/07	Эритроспермум 79/07
9-31	UKR-OD 1530.94/AE.SQUARROSA(1027)/Pamyati Azieva
8-26	AISBERG/AE.SQUARROSA(369)/Omgau 90

3.5.2 Анализ частоты авирулентных и вирулентных клонов монопустульных изолятов *P. graminis* f. sp. *tritici* Западной Сибири к гену *Sr38*

Для фитопатологического тестирования образцов пшеницы ОмГАУ нами выявлена частота авирулентных и вирулентных клонов из 139 монопустульных изолятов *P. graminis* f. sp. *tritici* к гену *Sr38* с использованием тестерных генотипов пшеницы: изогенная линия и сорт из наборов для дифференциации рас возбудителя стеблевой ржавчины пшеницы США и Канады, несущие ген *Sr38* (VPM-1, Trident, соответственно) (табл. 22).

Таблица 22. Частота авирулентных клонов *P. graminis* f. sp. *tritici* на тестерных генотипах пшеницы с *Sr38*

Место сбора <i>P. graminis</i> f. sp. <i>tritici</i>	Год	Количество монопустульных изолятов	Процент авирулентных клонов на линиях <i>Sr38</i>
Омская область	2020	33	9
Новосибирская область	2019, 2020	57	65
Алтайский край	2019	21	71
Красноярский край	2020	28	100
В сумме		139	60

3.5.3 Фитопатологическое тестирование селекционных линий мягкой пшеницы авирулентными к *Sr38* клонами гриба *P. graminis* f. sp. *tritici*

Для фитопатологического тестирования селекционных линий и сортов яровой мягкой пшеницы ОмГАУ отобраны изоляты *P. graminis* f. sp. *tritici* гриба из образцов инфекции Красноярского края, которые имеют стабильно воспроизводящиеся реакции устойчивости на тестерных генотипах пшеницы с *Sr38*.

Инфекционные типы «0» и «1» были описаны на зараженных растениях сортов и линий мягкой пшеницы: Лютесценс 12-18, Лютесценс 34-16, Лютесценс 81-17, Лютесценс 66-16; Эритроспермум 79/07, 9-31, 8-26 — что соответствует реакции устойчивости (рис. 13). Для сравнения помимо контроля восприимчивости (сорт Хакасская) в анализ был включен генотип 2, без гена *Sr38* по данным генотипирования с использованием молекулярных маркеров. На них наблюдали максимальное развитие симптомов возбудителя стеблевой ржавчины с баллами «3» и «4». Часть протестированных растений сорта Лютесценс 34-16 были восприимчивы к изолятам гриба с авирулентностью к *Sr38* (рис. 13: 45S и 45R). На их долю в проанализированной выборке пришлось около 30 %, что указывает на расщепление в селекционном материале по признаку устойчивости к возбудителю стеблевой ржавчины.

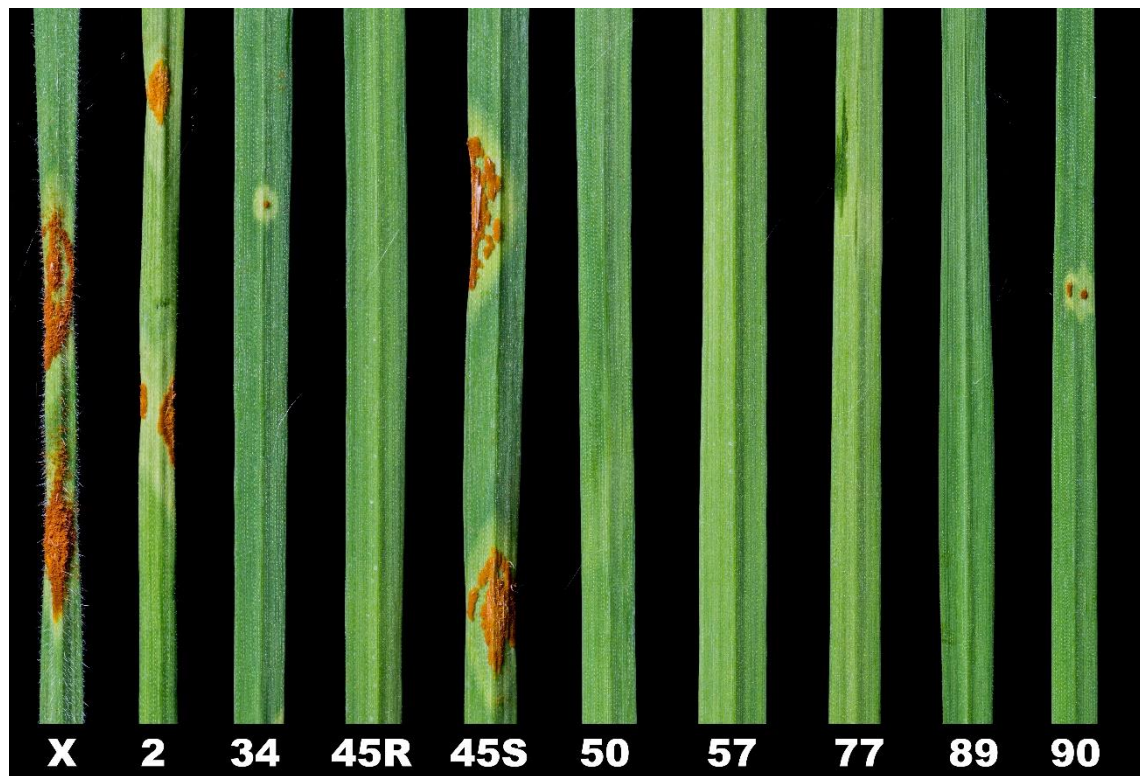


Рисунок 13. Реакция сортов и линий яровой мягкой пшеницы из западносибирской коллекции ОмГАУ на заражение изолятами *P. graminis* f. sp. *tritici*, авирулентными к гену устойчивости *Sr38*. Растения на стадии проростков: х — сорт Хакасская; 2 — генотип «2» из коллекции ОмГАУ; 34 — Лютесценс 12-18; 45R и 45S — Лютесценс 34-16; 50 — Лютесценс 81-17; 57 — Лютесценс 66-16; 77 — Эритроспермум 79/07; 89 — 9-31; 90 — 8-26.

Глава 4. Обсуждение

4.1 Западносибирская популяция *P. graminis* f. sp. *tritici*

Борьба с возбудителем стеблевой ржавчины пшеницы может быть более эффективной, если будет известно происхождение инфекции. Чтобы установить, является ли инокулят *P. graminis* f. sp. *tritici* в конкретном регионе эндемичным или диссеминирован ветром из соседних территорий, был проведен мониторинг патогена в Западной Сибири по вирулентности и по селективно-нейтральным микросателлитным маркерам.

4.1.1 Вирулентность и фенотипический состав западносибирской популяции

P. graminis f. sp. *tritici*

Если использовать признак вирулентности для определения границ популяций возбудителя стеблевой ржавчины, что принято по отношению к бурой ржавчине, обращает на себя внимание существование миграции патогена на территории Российской Федерации. Так, в образцах инфекции из Московской, Омской и Новосибирской областей, Алтайского края, а также в северокавказской популяции с высокой частотой представлены клоны, вирулентные к линиям с генами *Sr9g*, *Sr10*, *Sr38*, не выявлено вирулентности к *Sr31*, и обнаруживается низкая частота вирулентности к *Sr30* и *Sr24* (табл. 23). Важно отметить, что ген *Sr24* в условиях Китая уже не эффективен (Li et al., 2018). Напротив, неэффективный к образцам популяций европейской и азиатской частей России ген *Sr38* все еще обеспечивает в Казахстане и Китае надежную защиту сортов пшеницы от возбудителя стеблевой ржавчины (Li et al., 2018; Койшыбаев, 2018) (табл. 23).

Таблица 23. Вирулентность образцов популяций *P. graminis* f. sp. *tritici* из различных регионов России, а также соседних стран

Регион	Высокая частота вирулентности к генам (свыше 25%)	Низкая частота вирулентности	Авирулентность	Ссылка
Новосибирская область	<i>Sr5</i> , <i>Sr9a</i> , <i>Sr9b</i> , <i>Sr9d</i> , <i>Sr9g</i> , <i>Sr10</i> , <i>Sr17</i> , <i>Sr38</i> , <i>SrMcN</i>	<i>Sr6</i> , <i>Sr7b</i> , <i>Sr8a</i> , <i>Sr9e</i> , <i>Sr21</i> , <i>Sr36</i> , <i>SrTmp</i>	<i>Sr11</i> , <i>Sr24</i> , <i>Sr30</i> , <i>Sr31</i>	Сколотнева и др. 2020

Регион	Высокая частота вирулентности к генам (свыше 25%)	Низкая частота вирулентности	Авирулентность	Ссылка
Омская область	<i>Sr5, Sr6, Sr7b, Sr8a, Sr9a, Sr9b, Sr9d, Sr9e, Sr9g, Sr10, Sr17, Sr21, Sr36, Sr38, SrMcN, SrTmp</i>	<i>Sr11, Sr30</i>	<i>Sr24, Sr31</i>	Shamanin et al., 2019
Алтайский край	<i>Sr5, Sr8a, Sr9a, Sr9d, Sr9e, Sr9g, Sr10, Sr17, Sr21, Sr36, Sr38, SrMcN</i>	<i>Sr7b, Sr9b, Sr11, SrTmp</i>	<i>Sr24, Sr30, Sr31</i>	Shamanin et al., 2019
Московская область	<i>Sr9b, Sr9g, Sr10, Sr11, Sr38</i>	<i>Sr5, Sr6 Sr7b, Sr8a, Sr9a, Sr9d, Sr21, Sr24, Sr30, Sr36, SrTmp</i>	<i>Sr17, Sr31</i>	Киселева и др., 2017
Северный Кавказ	<i>Sr9d, Sr9g, Sr10, Sr17, Sr36</i>	<i>Sr6, Sr8a, Sr24, Sr8a, Sr9b, Sr24, Sr30</i>	<i>Sr5, Sr9a, Sr9e, Sr11, Sr31</i>	Синяк, Волкова, 2015
Казахстан	<i>Sr5, Sr6, Sr7b, Sr8a, Sr9b, Sr9g, Sr11</i>		<i>Sr24, Sr30, Sr31, Sr38</i>	Койшыбаев, 2018
Китай	<i>Sr5, Sr6, Sr7b, Sr8a, Sr9a, Sr9b, Sr9d, Sr9g, Sr10, Sr11, Sr24, SrMcN</i>	<i>Sr17, Sr30, Sr36</i>	<i>Sr9e, Sr21, Sr31, Sr38</i>	Li et al., 2018

Нами уже отмечалось, что анализ вирулентности образцов *P. graminis* f. sp. *tritici*, проводимый в советское время (40-е–80-е гг. 20 века), выявлял относительное генетическое сходство географических популяций, что обнаруживается в целом и сейчас. Тем не менее, при анализе вирулентного состава образцов инфекции можно сделать предварительный вывод о существовании обособленной азиатской популяции *P. graminis* f. sp. *tritici* на территории Западной Сибири и Алтайского края, которая отличается высокой вирулентностью к генам *Sr5, Sr8a, Sr9a*. Гены *Sr6, Sr7b, Sr8a, Sr9b, Sr9e, Sr11, Sr21, Sr30* и *Sr36* являются дифференцирующими для географических популяций из Северного Кавказа, Центрально-Европейского региона страны и Западной Сибири, что позволяет и дальше использовать североамериканский набор тестерных линий пшеницы (*Pgt differential set*) для характеристики отечественных образцов инфекции.

Сопоставление профилей вирулентностей отдельных географических выборок позволяет определить западноевропейскую популяцию *Pgt* как совокупность трех субпопуляций: омской, новосибирской и алтайской (индекс расстояний Космана KB_m 0.107 между омской и новосибирской; KB_m между омской и алтайской 0.242; KB_m 0.155 между новосибирской и алтайской). Наибольшее степень дифференциации выявлена между алтайской и омской субпопуляциями. Географические выборки *P. graminis* f. sp. *tritici* из Алтайского края и Омской области в период исследования представляли собой наборы фенотипов вирулентности или рас, неперекрывающихся по составу. В то же время, из новосибирских образцов патогена была выделена смесь монопустульных изолятов, по-видимому, происходящих из соседних регионов с фенотипами вирулентности, которые возникли на западе (TKRPF, QHNSF и MLLTF) или на юге (NFMSF, LKCSF, LKMSF и PKCSF) Западной Сибири.

Вероятно, половое размножение в настоящее время определяет структуру популяции *P. graminis* f. sp. *tritici* в Омской области. Действительно, на данной территории кустарник барбариса встречается повсеместно, и на нем неоднократно был подтвержден возбудитель стеблевой ржавчины (Шаманин и др., 2015). Высокая вариабельность внутри выборки (значение индекса Шеннона $Sh = 1.95$) является косвенным свидетельством наличия половой стадии в развитии возбудителя. Поскольку новые расы могут появиться после половой рекомбинации на альтернативном хозяине (Jin, 2011), состав половой популяции *P. graminis* f. sp. *tritici* очень динамичен. Именно эту картину нам удалось выявить при анализе состава фенотипов вирулентности в Омской области. В 2017–2018 годах раса (или фенотип вирулентности) TKRPF преобладала над группой родственных М-рас. В 2019–2020 годах в результате анализа 40 монопустульных изолятов обнаружена смена доминантности состава в пользу расы МТМТС. Сходные по динамике процессы резкого изменения расового состава были зарегистрированы в половых популяциях *P. graminis* f. sp. *tritici* в Северной Америке, где расы 56, 15В и QCC, происходящие от барбариса, были ответственны за серию серьезных эпифитотий в середине 1930-х, середине 1950-х годов и в период с 1989 по 1993 год (Stakman, Rodenhiser, 1959; Martens et al., 1989). Расы *P. graminis* f. sp. *tritici* с богатым спектром вирулентности были выделены из кустарников барбариса в центральном регионе России с 2000 по 2009 год (Сколотнева и др., 2013).

Восприимчивые кустарники барбариса к *P. graminis* f. sp. *tritici* в Алтайском крае пока не обнаружены. Образцы из Алтайского края состояли из нескольких близкородственных фенотипов. Таким образом, можно с большой долей уверенности предположить клональную структуру популяции *P. graminis* f. sp. *tritici* в Алтайском крае. Из-за мягкой и короткой зимы урединоспоры способны выжить на озимой пшенице, площадь которой в регионе увеличилась за последнее десятилетие. Новые линии в бесполой популяциях грибов с малой вероятностью могут быть получены с помощью соматической гибридизации, которая широко обсуждалась как источник генетического разнообразия (Johnson, Newton, 1946; Watson, Luig, 1958; Cotter, Roberts, 1963; Luig, Watson, 1972). Появление посредством соматической гибридизации было доказано для печально известной расы Ug99 (Li et al., 2019). Таким образом, низкое разнообразие вирулентности для субпопуляции *P. graminis* f. sp. *tritici* Алтайского края может быть обеспечено соматической гибридизацией.

Полевое и лабораторное тестирование на вирулентность показало, что барбарис не является источником инфекции для пшеничных посевов в Новосибирской области (Kelbin et al., 2019). Следовательно, возбудитель стеблевой ржавчины пшеницы в Новосибирской области не эндемичен, а переносится ветром из соседних регионов. Это делает паттерн вирулентности в местных образцах наиболее изменчивым (значения индекса Шеннона от 1.40 до 2.22) и зависит от полового отбора в соседних регионах. Однако современная выборка *P. graminis* f. sp. *tritici* из Новосибирской области, по-видимому, представляет собой смесь омской и алтайской субпопуляций.

В Новосибирской области, вероятно, создаются условия, благоприятные для поддержания заносных спор *P. graminis* f. sp. *tritici*, мигрирующих как в восточном направлении из Омской области, так и с южными ветрами из Алтайского края. Во время вегетационного периода 2017 года причиной (1) ранней инфекции, вероятнее всего, стал занос инокулюма из Омской области. Вторичная инфекция (2) была смешанного происхождения с преобладанием рас алтайской популяции. Кроме того, сходство доминантных рас в образцах *P. graminis* f. sp. *tritici* с восприимчивого сорта Черныява-13 также указало на преимущество восточного вектора перемещения инокулюма: раса TKRPF была зарегистрирована в Омской области в июле, а в Новосибирской области она была обнаружена только в августе.

4.1.2 Генетическая структура выборки западносибирской популяции

монопустульных изолятов *P. graminis* f. sp. *tritici* по микросателлитным локусам

Впервые проведена оценка уровня генетического разнообразия западносибирской выборки монопустульных изолятов возбудителя стеблевой ржавчины с использованием микросателлитных (SSR) маркеров. Идентификация и характеристика монопустульных изолятов *P. graminis* f. sp. *tritici* имеет большое значение при дифференциации популяций патогена и определении уровня генного потока между соседними ареалами патогена. Анализ полиморфизма SSR локусов с помощью микросателлитных маркеров является одним из эффективных инструментов исследования грибных и растительных геномов, отличающихся высокополиморфными участками областей микросателлитных повторов (Berlin 2012; 2017).

С помощью 16 SSR-маркеров подтверждена дифференциация патогена, вызывающего стеблевую ржавчину мягкой пшеницы в умеренном климатическом поясе Российской Федерации по географическому происхождению на азиатскую и европейскую популяции. Проанализированные в данной работе выборки монопустульных изолятов из Западной Сибири (Om, No, Al) и Центрального региона (CR) имеют значительные различия по уровню генетической изменчивости. Выявлено, что три выборки из Западно-Сибирского региона имеют высокую степень сходства, что могло быть обусловлено сходным воздействием факторов окружающей среды на развитие патогена на территории умеренной зоны возделывания мягкой пшеницы с резко-континентальным климатом и/или осложнением естественного переноса спор через Уральские горы как географического барьера.

Наибольшее аллельное разнообразие отмечено для монопустульных изолятов из Западной Сибири, наименьшее — для Центрального региона (среднее число аллелей на локус 4.688 и 1.750 соответственно) (табл. 11). Изоляты *P. graminis* f. sp. *tritici* различаются по наличию диагностических аллелей и по частоте встречаемости отдельных аллелей (табл. 13). Высокая разница в размерах между двумя аллелями одного локуса коррелирует с числом возможных мутационных событий, которые произошли с момента их отделения от общего предка. Таким образом, по показателям среднего генного разнообразия и числу аллелей на SSR-локус выборка из Западной Сибири отличалась большим генетическим разнообразием по сравнению с выборкой из Центрального

региона. Этот вывод подкрепляется максимальной разностью в размерах аллелей амплифицированных SSR-локусов (табл. 12).

Большие, по сравнению с выборкой из Центрального региона, размеры аллелей у монопустульных изолятов из Омской, Новосибирской областей и Алтайского края, могут свидетельствовать о высокой скорости микроэволюционных процессов в локальной популяции, по всей видимости, посредством пошаговых мутационных событий, которые и привели к увеличению числа повторов в микросателлитных локусах. Напротив, выборку из Центрального региона можно считать более стабильной с точки зрения микроэволюционных процессов, так как она характеризуется минимальными размерами микросателлитных локусов, меньшим генным разнообразием по сравнению с выборками из Ом, Но и Ал (табл. 12). Это обуславливает необходимость в регулярных мониторинговых мероприятиях.

При сравнении данных полиморфизма микросателлитных локусов, полученных нами в рамках этого исследования, с данными патогена *P. triticina* из азиатских популяций обнаружены схожие значения между выборками. В 2017 году д.б.н. Гультьевой с соавторами (Гультьева и др., 2018) охарактеризована структура популяции возбудителя бурой ржавчины в азиатских регионах России и Казахстана по вирулентности и микросателлитным локусам для проверки гипотезы о существовании единой популяции гриба на данной территории. В работе представлено, что среднее число аллелей на SSR локус (N_a) в западносибирской коллекции *P. triticina* составило 2.2, уральской — 2.0, казахстанской — 2.1; число эффективных аллелей (N_e) во всех популяциях — 1.6; наблюдаемая/ожидаемая гетерозиготность в западносибирской коллекции — 0.38, уральской — 0.4 казахстанской — 0.44; индекс фиксации в западносибирской — -0.13, в уральской — -0.29, в казахстанской — -0.34. В данной работе показатели индексов межпопуляционных генетических расстояний (R_{ST}) не показывают дифференциации между западносибирскими и казахстанскими популяциями. На основании приведенных данных авторы позволяют сделать вывод о существовании единой азиатской популяции *P. triticina* на данной территории.

Индекс фиксации (F_{is}) с отрицательным значением является индикатором смещения генетического равновесия в трех выборках мультилокусных генотипов (CR, No, Al) в сторону избытка гетерозигот. Эти данные указывают, что, возможно, в

популяциях действует преимущественно бесполое (клональное) размножение. Данное предположение снижает значение полового процесса для генетической изменчивости в выборках *P. graminis* f. sp. *tritici*, но не отвергает его формообразующей роли в изучаемых выборках, что было показано ранее (Skolotneva et al., 2013). Однако для монопустульных изолятов из Омской области индекс фиксации (Fis) положительный, что подтверждает роль полового процесса в изменчивости гриба. Известно, что на данной территории кустарник барбариса встречается повсеместно, и на нем неоднократно был подтвержден возбудитель стеблевой ржавчины (Шаманин и др., 2015).

В генеральной выборке Западно-Сибирского региона между мультилокусными SSR генотипами отсутствуют значимые генетические различия. Это заключение сделано путем сравнения индексов межпопуляционных расстояний (F_{ST} , R_{ST}), вычисленных для географических выборок патогена (табл. 14). Важно отметить, что выборки из Алтайского края и Омской области продемонстрировали наибольшие межпопуляционные отличия на основании данных по SSR-генотипированию. Кластеризация некоторых монопустульных изолятов из Алтайского края (Al_1, Al_2, Al_3, Al_4, Al_5) изолировано от остальной выборки, включая Центральный регион, разрешает предположить частичное экзогенное происхождение инфекции на данной территории.

Генетическая изменчивость внутри и между популяциями гриба проанализирована с помощью селективно нейтральных маркеров, что позволило оценить степень обмена инфекционным материалом на территории возделывания мягкой пшеницы вдоль умеренной климатической зоны. Данные кластерного анализа степени родства мультилокусных SSR генотипов демонстрируют отсутствие контакта между изолятами, локализованными в Центральном и Западно-Сибирском регионах. На дендрограмме сформирован кластер, состоящий только из омских монопустульных изолятов, который позволяет предположить местное происхождение инфекции, вероятно, с помощью полового процесса на промежуточном растении-хозяине барбарисе, восприимчивые сорта которого произрастают в регионе. Крупный смешанный кластер объединяет группы монопустульных изолятов разной степени сходства мультилокусных генотипов различного географического происхождения в пределах большого ареала — Западная Сибирь. При этом чаще всего сходство, поддержанное высокими индексами бутстреп, обнаруживается между генотипами из Омска и Новосибирска, либо из Алтайского края и

Новосибирска, что подтверждает статус Новосибирской области как места, где на пшеничных посевах происходит формирование смешанной субпопуляции *P. graminis* f. sp. *tritici*.

Различия между выборками Центрального региона и Западной Сибири по SSR маркерам могут указывать на разное происхождение инфекции в этих регионах и независимую микроэволюцию европейской и азиатской популяций. Одним из возможных препятствий для распространения спор с Европейской части России в Азиатскую являются Уральские горы и направление воздушных потоков. Мы предполагаем, что в Западной Сибири существуют как собственные независимые источники инфекции, так и экзогенные, проникшие с помощью воздушного заноса спор в Западную Сибирь из Казахстана и/или Китая. На это указывает, в том числе, сходство профилей некоторых фенотипов вирулентности, выявленных на территории Западной Сибири, а также в Казахстане и Китае (Койшыбаев, 2018; Li et al., 2018).

Полиморфизм трёх маркеров Pgestssr318, PgtCAA93, PgtCAA98 позволяет проводить диагностику происхождения инфекции *P. graminis* f. sp. *tritici*, устанавливая принадлежность инокулюма к популяции Центрального региона России или к популяции, циркулирующей на территории крупных пшеничных регионов Западной Сибири (Омской/Новосибирской областей/Алтайского края). Наибольший полиморфизм выявлен у маркера Pgestssr227 (9 аллельных состояний).

Таким образом, результаты, проведенных исследований с использованием в качестве селективно-нейтральных молекулярных маркеров микросателлитных локусов фитопатогенного гриба *P. graminis* f. sp. *tritici*, позволяют сделать следующие выводы:

1. Анализ полиморфизма SSR-локусов впервые позволил дифференцировать две популяции *P. graminis* f. sp. *tritici* на территории возделывания мягкой пшеницы вдоль умеренной климатической зоны: европейскую — из Центрального региона и азиатскую — из Западной Сибири.
2. Отсутствие общих SSR генотипов между выборками европейской и азиатской популяций *P. graminis* f. sp. *tritici* указывает на слабый уровень генетического потока между ними.

3. Выборки монопустульных изолятов из Алтайского края, Омской и Новосибирской областей в значительной степени имеют сходный профиль мультилокусных SSR генотипов, что предполагает относительно высокий генетический дрейф внутри единой азиатской, или западносибирской, популяции, однако некоторые маркеры позволяют различать изоляты по их географическому происхождению.

4.1.3 Общая характеристика западносибирской популяции *P. graminis* f. sp. *tritici*

Традиционно для характеристики региональных популяций ржавчинных грибов используется признак вирулентности. Однако этот маркер зависит от генотипа растения-хозяина. Кроме того, нельзя исключать эффект случайной выборки при сборе материала. Для составления более точного суждения о географическом распределении популяций *P. graminis* f. sp. *tritici* необходимо проведение широкомасштабного анализа вирулентности образцов популяций в унифицированных условиях, соответствующих международным стандартам GRRC с привлечением данных генотипирования с помощью нейтральных ДНК маркеров: микросателлитных маркеров SSR (simple sequence repeats) и однонуклеотидных полиморфизмов SNP (single nucleotide polymorphisms). Подобный анализ выполнен Е.И. Гульяевой с целью охарактеризовать российские популяции возбудителя бурой ржавчины *P. triticina*; показана их дифференциация на европейскую, азиатскую и кавказскую группы со слабым генным потоком между азиатской и европейской (Gulyaeva et al., 2017).

Анализ монопустульных изолятов *P. graminis* f. sp. *tritici* в лаборатории молекулярной фитопатологии ИЦиГ СО РАН позволил:

- 1) описать западносибирскую популяцию *P. graminis* f. sp. *tritici* как единую генеральную выборку (азиатскую популяцию) на территории Омской, Новосибирской областей и Алтайского края по сходству вирулентных спектров у инфекционных образцов (наибольшая частота генов *vr5*, *vr8a*, *vr9a/Avr2*, *Avr11*, *Avr24*, *Avr30* и *Avr31*) и профилей SSR-локусов (Pgestssr318, PgtCAA80, PgtCAA93, PgtCAA98);

- 2) установить степень дифференциации европейской и азиатской популяций относительно изменчивости селективно-нейтральных микросателлитных маркеров ($F_{ST} = 0.248$; $R_{ST} = 0.972$).
- 3) рассмотреть три географических выборки патогена (из Омской, Новосибирской областей и Алтайского края) как самостоятельные субпопуляции одной генеральной выборки (азиатской популяции), имеющий специфический состав фенотипов вирулентности (рас) и генетической изменчивости SSR-локусов, предложенных нами для диагностики происхождения инфекционного материала.

На обширной территории Западной Сибири, представленной областями с различными агроклиматическими показателями, создаются условия для существования независимых патогенных популяций возбудителя стеблевой ржавчины со специфическими путями миграции (в восточном и северном направлениях) и все еще невыясненными источниками возобновления инфекции. Так, обозначенная вероятность смешанного происхождения популяции *P. graminis* f. sp. *tritici*, формирующейся на производственных посевах пшеницы в Новосибирской области, определяет необходимость ориентироваться на фитопатологические сводки по расовому составу популяций Омской области и Алтайского края. Соответственно, гены *Sr11*, *Sr24*, *Sr30* и *Sr31* могут быть рекомендованы как эффективные против возбудителя стеблевой ржавчины в условиях северной лесостепи Приобья. Для создания сортов с длительной устойчивостью используется стратегия объединения в одном генотипе генов, отвечающих за разный тип устойчивости. Группа генов ювенильной устойчивости (*Sr11*, *Sr24*, *Sr30* и *Sr31*) с геном возрастной устойчивости *Sr2*, обуславливающим замедленное развитие болезни «slow rusting», будет обеспечивать более продолжительную защиту посевов пшеницы от возбудителя стеблевой ржавчины в Новосибирской области в условиях сложившейся фитосанитарной ситуации.

Полученные результаты демонстрируют значительную дифференциацию среди региональных субпопуляций *P. graminis* f. sp. *tritici* в Западной Сибири. Главной движущей силой популяционного разнообразия и географической дифференциации, по-видимому, является половое размножение патогенных грибов в Омской области (северо-запад области), тогда как в Алтайском крае (юго-восток от области) предполагается

только клональное размножение без признаков полового размножения. Эти два хорошо различимых полюса, как географически, так и по репродуктивной способности *P. graminis* f. sp. *tritici*, предопределили состав субпопуляций патогенов с постепенным смешением рас *P. graminis* f. sp. *tritici* по градиенту с юго-востока на северо-запад Западной Сибири. Однако важно отметить, что современная азиатская популяция стеблевой ржавчины отличается от современной азиатской популяции бурой ржавчины, описанной Гулятьевой и соавторами (2017), в сторону значительно превосходящего генетического разнообразия как селективных, так и селективно-нейтральных маркеров (стеблевая ржавчина/ бурая ржавчина: $I = 2.87/0.56$; $0.989/0.500$, соответственно). Это отражает биологические особенности данных патогенов в отношении присутствия в жизненном цикле полового процесса, роль которого у возбудителя бурой ржавчины в условиях современных экосистем незначительна по сравнению с возбудителем стеблевой ржавчины.

Различия между выборками Центрального региона и Западной Сибири по SSR маркерам и признаку вирулентности могут указывать на разное происхождение инфекции в этих регионах и независимую микроэволюцию европейской и азиатской популяций, в том числе определяемую разным составом районированных сортов мягкой пшеницы, климатическими условиями и географической изоляцией.

4.2 Генетика устойчивости яровой мягкой пшеницы к *P. graminis* f. sp. *tritici*

Кроме как популяционной генетики возбудителя стеблевой ржавчины мы изучили генетические взаимоотношения в патосистеме хозяин-патоген, как объекты межорганизменной генетики.

С увеличением частоты вспышек возбудителя стеблевой ржавчины пшеницы на производственных полях в Западной Сибири показало острую необходимость диверсификации генетической основы устойчивости к грибным инфекциям. В качестве первой крупной попытки в этом направлении был скрининг яровой мягкой пшеницы из 146 сортов и линий на наличие основных генов в рамках Казахстанско-Сибирской сети по улучшению яровой пшеницы (KASIB) (Шаманин и др., 2016).

На основании полученных результатов устойчивые генотипы пшеницы, несущие *Sr25*, *Sr31*, *Sr36*, *Sr6Ai#2* или неизвестные мажорные гены, были отобраны в качестве

потенциальных сортов-кандидатов для создания новой панели сибирской пшеницы. Мы ожидаем, что новая панель, содержащая 80 селекционных линий и сортов яровой мягкой пшеницы, будет содержать расширенный набор генов устойчивости к возбудителю стеблевой ржавчины, таких как *Sr23*, *Sr24*, *Sr25*, *Sr31*, *Sr36*, *Sr38*, *Sr6Ai#2*, *Sr2* или *Sr57*, которые могли происходить из генетического фона многочисленных линий пшеницы мировой селекции (база данных GRIS <http://wheatpedigree.net/>; Гультияева и др., 2019).

Во многих образцах были подтверждены гены устойчивости *Sr*, а также дополнительно были идентифицированы *Sr15*, *Sr22* и *Sr44* (табл. 15). Среди образцов с высокой устойчивостью на стадии проростков и взрослого растения были сорт Нива 55 и линия Л14/10-14. Мы ожидали, что сорт Нива 55 будет нести гены *Sr31* и *Sr24*, что было подтверждено с помощью генотипирования, и дополнительно были идентифицированы ещё два гена, *Sr2* и *Sr23*. Селекционная линия Л14/10-14, по литературным данным, несет *Sr25* и *Sr31*, что подтверждено, и дополнительно идентифицирован ген *Sr44*.

В тестируемом материале идентифицировано большое количество генотипов с комплексом генов, определяющих групповую устойчивость к грибным патогенам, все они эффективны как против местного патогена, так и против патогена из сопряженных территорий.

Генотипы с несколькими генами устойчивости распространены более, чем генотипы с одним геном *Sr*. Генотипы с комплексом генов обычно содержали специфические (мажорные) гены с неспецифическими (минорными и APR) генами, включая *Sr2* или *Sr57*. Считается, что такая комбинация обеспечивает длительную устойчивость (Baranova et al., 2016; Shamanin et al., 2020). Нами было обнаружено в отдельных генотипах до пяти генов устойчивости. Наиболее сложный генотип подтвержден для сорта Лютесценс 89-18: *Sr22*, *Sr23*, *Sr31*, *Sr44* и *Sr57*.

В Омской области половое размножение *P. graminis* f. sp. *tritici* формирует структуру популяции, где наша панель сортообразцов была оценена при естественном заражении (Skolotneva et al., 2020). В 2017–2018 годах наиболее часто определяемая раса была TKRPF (вирулентная к *Sr5*, *Sr21*, *Sr9e*, *Sr7b*, *Sr6*, *Sr8a*, *Sr9g*, *Sr36*, *Sr9b*, *Sr17*, *Sr9a*, *Sr10*, *SrTmp*, *Sr38* и *SrMcN*), а ещё одна раса MTMTC (вирулентная по отношению к *Sr5*,

Sr6, Sr7b, Sr8a, Sr11, Sr9g, Sr36, Sr17, Sr9a, Sr9d, Sr10, SrTmp и *SrMcN*) — преобладала в 2019–2020 годах.

Поскольку вирулентность популяций патогенов нестабильна, перед использованием новой панели пшеницы важно проверить образцы на устойчивость. Во время двухлетних полевых испытаний только образцы из группы с устойчивостью R–MR (51 из 92) были признаны ценными для селекции на опережение. В ней большинство образцов содержали *Sr31* или *Sr44* в сочетании с *Sr57* или *Sr2*. Комбинации генов *Sr31+Sr44*, *Sr31+Sr24* и *Sr31+Sr25* обеспечивали эффективную устойчивость к местному патогену *P. graminis* f. sp. *tritici*. Стратегия устойчивой резистентности должна включать данные как об эндогенных, так и об экзогенных патогенах. Четырнадцать образцов из группы устойчивых R–MR, несущих вместе *Sr31* и *Sr44*, могут быть эффективными как для местных патогенов с преобладающим *Avr31* (Skolotneva et al., 2020), так и для экзогенных инокулятивных инфекций в случаях появления рас Ug99 с *Avr44*. Этими четырнадцатью случаями были: Лютесценс 9-18, Лютесценс 21-19, Лютесценс 24-19, Лютесценс 58-18, Лютесценс 59-18, Лютесценс 89-18, Лютесценс 95-18, Эритроспермум 4-16, Эритроспермум 44-18, KS 111/09-2, линии 1617ae9, Л70/06-4, Л14/10-14 и 375.

Ген *Sr2* в тестируемых генотипах, который был выявлен маркером Xgwm533, морфологическим маркером гена (PBC), в полевых условиях наблюдался только у сорта Силантий. Однако последние исследования выявили случаи разрыва связи между *Sr2* и PBC у пшеницы (Mishra et al., 2005).

Гены *Sr15* и *Sr22* наиболее эффективны при более низких температурах (McIntosh, Luig, 1973; Gousseau et al., 1985). Ген *Sr23* эффективен при высокой температуре и высокой интенсивности света (Luig, 1983). Поскольку образцы, несущие эти гены, идентифицированы в сочетании с другими генами, устойчивыми к местному патогену, следовательно, термочувствительные гены в настоящее время не могут быть рекомендованы для возделывания в Западной Сибири.

Восемь из предполагаемых генов *Sr* связаны с генами устойчивости к другим грибковым патогенам, таким как мучнистая роса и другие виды пшеничной ржавчины ([Приложение 5](#)). Среди группы образцов с устойчивостью R–MR только двенадцать генотипов с двумя или более генами обеспечили плеiotропную устойчивость: Нива 55, Лютесценс 95-18, Эритроспермум 44-18, Лютесценс 126-15, Лютесценс 89-18, Лютесценс

35-18, Лютесценс ШТ-335, Линия 1616ае14, Линия 1617ае9, Лютесценс 417/10-5, Л14/10-14 и Линия 375. Они могут быть ценными источниками с эффективными генами *Sr*. Для Лютесценс 38-19 и Лютесценс 123-13 могут присутствовать неизвестные гены устойчивости, идентификация которых остается за пределами современных молекулярных инструментов.

Таким образом, в анализируемых образцах яровой мягкой пшеницы (i) идентифицированы крупные источники генотипов с генами *Sr* (ii) в сочетании с набором ювенильных генов и генов устойчивости взрослого растения, (iii) которые будут эффективны как против местных, так и заносных рас патогена. Получена новая коллекция охарактеризованных эффективных доноров и источников устойчивости для разработки стратегии долгосрочной устойчивости к возбудителю стеблевой ржавчины в регионах возделывания пшеницы в Западной Сибири.

4.3. Эффективность носителей транслокации 2NS/2AS с геном *Sr38* в условиях Западной Сибири

4.3.1 Частота авирулентных и вирулентных клонов монопустульных изолятов к *Sr38*

При оценке монопустульных изолятов *P. graminis* f. sp. *tritici* из различных областей Сибири выявлена разная частота клонов гриба, не поражающих тестерные генотипы с *Sr38*, или авирулентных к ним (табл. 21). Обнаружен возрастающий вектор с запада на восток: минимальная частота в Омской области против 100 %-ной авирулентности образца популяции из Красноярского края.

На рисунке 14 представлен полиморфизм инфекционных типов (ITs) на заражение монопустульными изолятами *P. graminis* f. sp. *tritici* из различных выборок: получены все варианты ITs, описываемые баллами «1», «2», «3» и «4», но для образцов из Алтайского и Красноярского краев, подходят преимущественно те, что соответствуют реакциям устойчивости и средней устойчивости хозяина.



Рисунок 14. Инфекционные типы *P. graminis* f. sp. *tritici* из различных географических выборок на тестерных линиях VPM1 и/или Trident с геном *Sr38*. Заражённые линии пшеницы изолятами гриба из Новосибирской области (1, 2, 3); из Алтайского (4) и Красноярского краев (5); из Омской области (6, 7).

4.3.2 Носители доминантных аллелей гена *Sr38* в транслокации 2NS/2AS

Используемый молекулярный маркер к гену *Sr38* является доминантным, поэтому не может исключать гетерозиготность признака, что выявилось в результате фитопатологического тестирования. Для остальных шести селекционных образцов западносибирской коллекции сортов и линий мягкой пшеницы (Лютесценс 12-18, Лютесценс 81-17, Лютесценс 66-16; Эритроспермум 79/07, 9-31, 8-26) подтверждено присутствие устойчивых аллелей гена *Sr38*, экспрессирующихся в ответ на заражение авирулентными клонами гриба по закону Флора «ген-на-ген» взаимодействия хозяина и патогена.

Полученные данные по составу западносибирской популяции *P. graminis* f. sp. *tritici* позволяют рассматривать ген *Sr38* в качестве кандидата для

включения в селекцию пшеницы в Красноярском крае, а также в составе генных комбинаций в Новосибирской области и Алтайском крае.

Носителями доминантных аллелей гена *Sr38* в транслокации 2NS/2AS являются следующие сорта и линии мягкой пшеницы: Лютесценс 12-18, Лютесценс 81-17, Лютесценс 66-16; Эритроспермум 79/07, 9-31 и 8-26. Данный селекционный материал адаптирован к условиям региона и может быть рекомендован как для производственных посевов, так и в качестве доноров устойчивости к возбудителю стеблевой ржавчины.

Выявлены новые авирулентные клоны в образцах новосибирской и алтайской инфекции 2019–2020 годов, что не было зафиксировано при анализе расового состава западносибирской популяции, выполненном в 2017 году (Skolotneva et al., 2020). Вероятно, здесь имеет место занос инокулюма *P. graminis* f. sp. *tritici* из южных регионов: известно, что ген *Sr38* эффективен в северных районах Казахстана и в Китае (Koishybaev, 2018; Li et al., 2018).

На 2020 год западносибирская популяция *P. graminis* f. sp. *tritici* представлена на 60 % авирулентными клонами к гену *Sr38*. Если исключить из анализа выборку из Омской области, где ген уже несколько лет относится к категории неэффективных к местному патогену (Shamanin et al., 2020), то частота клонов гриба, не поражающих генотипы с *Sr38*, возрастет до 78 %. Это позволяет рекомендовать *Sr38* в качестве кандидата для включения в комбинации генов в селекционные программы восточных областей Сибири.

Заключение

Впервые охарактеризована западносибирская популяция возбудителя стеблевой ржавчины *P. graminis* f. sp. *tritici* на мягкой пшенице (*T. aestivum*), собранная в Новосибирской, Омской областях и Алтайского края, то есть с максимальным охватом территории, являющейся в настоящее время областью развития патогена в Западной Сибири.

Различия между монопустульными изолятами Центрального региона и Западной Сибири по SSR-маркерам и признаку вирулентности указывают на разное происхождение инфекции в этих регионах и независимую микроэволюцию европейской и азиатской популяций, в том числе определяемую разным составом районированных сортов мягкой пшеницы.

С использованием признака вирулентности установлено, что инфекция возбудителя стеблевой ржавчины в 2017–2019 годах в Новосибирской области является заносной из Омской области и Алтайского края. Показано, что в 2017–2018 годах в новосибирской популяции патогена доминировал высоковирулентный фенотип TKRPF и близкие к нему по вирулентности расы. Высокое разнообразие фенотипического состава омской популяции относительно других обусловлено возможностью развития патогена по полному циклу, что, соответственно, увеличивает генетическое разнообразие полового поколения относительно клональных. В Алтайском крае предполагается только клональное размножение. Эти две хорошо различимые группы Pgt как по географическому происхождению, так и по репродуктивной способности предопределили крайние границы изменчивости состава субпопуляций патогена с юго-востока на северо-запад Западной Сибири. При этом отмечается динамика разнообразия фенотипического состава в зависимости от года. Анализ полиморфизма микросателлитных локусов подтвердил результаты фитопатологического анализа: наибольшее разнообразие мультилокусных SSR генотипов в омской выборке как результат действующего полового процесса в субпопуляции, а также присутствие в новосибирской выборке мультилокусных SSR генотипов из соседних областей.

Среди протестированных сортов яровой мягкой пшеницы ОмГАУ обнаружен крупный источник генотипов с комплексом генов, сцепленных с генами устойчивости

других возбудителей ржавчины, которые будут эффективны как против местных, так и заносных патогенов. Изученная коллекция сортов и линий яровой мягкой пшеницы может быть привлечена к разработке стратегии долгосрочной устойчивости к возбудителю стеблевой ржавчины в зонах возделывания пшеницы в Западной Сибири.

Таким образом, в данной работе подробно рассмотрены основные стороны генетического полиморфизма популяции возбудителя стеблевой ржавчины пшеницы на территории Западной Сибири. Создана коллекция монопустульных изолятов *P. graminis* f. sp. *tritici* в процессе выявления доминирующих в современной западносибирской популяции рас и их генов вирулентности. С использованием молекулярно-генетического и фитопатологического анализа адаптированных селекционных линий и сортов яровой мягкой пшеницы описаны источники устойчивости к стеблевой ржавчине в условиях Западной Сибири.

Выводы

1. Создана коллекция изолятов, представленных широкораспространенными и редкими фенотипами, которая будет использована в дальнейших фитопатологических исследованиях пшеницы.
2. Проанализировано 238 монопустульных изолятов (2018–2019 гг.) и определена генетическая структура западносибирской популяции. Показано, что в 2017–2018 годах высоковирулентной являлась раса TKRPF — *Sr5*, *Sr21*, *Sr9e*, *Sr7b*, *Sr6*, *Sr8a*, *Sr9g*, *Sr36*, *Sr9b*, *Sr17*, *Sr9a*, *Sr10*, *SrTmp*, *Sr38*, *SrMcN*, а в 2019–2020 годах — раса MTMTC — *Sr5*, *Sr6*, *Sr7b*, *Sr8a*, *Sr11*, *Sr9g*, *Sr36*, *Sr17*, *Sr9a*, *Sr9d*, *Sr10*, *SrTmp* и *SrMcN*. Авирулентность западносибирской популяции Pgt сохраняется к генам *Sr*: 24, 30, 31.
3. Впервые показано, что западносибирская популяция возбудителя стеблевой ржавчины состоит из трех самостоятельных субпопуляций (омской, алтайской и новосибирской), входящих в состав одной генеральной выборки (азиатской популяции), имеющей независимое происхождение от европейской популяции. Генетическая дифференциация популяции определена по SSR-маркерам и тестам на вирулентность.
4. Определен состав генов *Sr* у селекционных линий яровой мягкой пшеницы с помощью специфических молекулярных маркеров и фитопатологических тестов. Показано, что линии с генами *Sr24*, *Sr25*, *Sr31*, *Sr38*, *Sr44* и *Sr57* являются перспективными для сдерживания распространения возбудителя *P. graminis* f. sp. *tritici* в западносибирском регионе.

Список сокращений

AFLP — Amplified Fragment Length Polymorphism, полиморфизм длины амплифицированного фрагмента

CAPS — Cleaved Amplified Polymorphic Sequences, расщепленные амплифицированные полиморфные последовательности

KASP — Kompetitive Allele Specific PCR, конкурентная аллель-специфическая ПЦР

SSR — Simple Sequence Repeats, короткий tandemный повтор (микросателлиты)

ITS — Internal Transcribed Spacer, внутренний транскрибируемый спейсер

TEF1 — Translation Elongation Factor 1 alpha, трансляция фактора элонгации 1 альфа

TUB2 — β -tubulin II, β -тубулин II

LNS2 — Hypothetical protein, гипотетический белок

RPB2 — DNA-directed RNA polymerase II subunit B, ДНК-направленные РНК-полимеразы II субъединицы B

TOP1 — DNA topoisomerase I, ДНК-топоизомераза I

CIMMYT — International Maize and Wheat Improvement Center, Международный центр улучшения кукурузы и пшеницы

ПЦР — Полимеразная цепная реакция

Список литературы

1. Азбукина З.М. Ржавчинные грибы Дальнего Востока. М.: Наука, 1974, 577 с.
2. Барменков А.С. Выявление физиологических рас *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. Докл. ВАСХНИЛ. – 1939. – Т. 10. – С. 20–22.
3. Вавилов Н.И. Учение об иммунитете растений к инфекционным заболеваниям. – М // Л., Огиз, Сельхозгиз, 1935. 75–128 с.
4. Волкова В.Т. Состав популяций возбудителя стеблевой ржавчины зерновых культур *Puccinia graminis* Pers. в среднем и нижнем Поволжье: Дис. канд. биол. наук. М., 1978 – 187 с.
5. Волкова Г.В., Кудинова О.А., Мирошниченко О.О. Распространение стеблевой ржавчины на Северном Кавказе и иммунологическая характеристика ряда сортов озимой пшеницы к патогену // Достижения науки и техники АПК. – 2018. – Т. 32. – №. 11.
6. Волкова Г.В., Шумилов Ю.В., Синяк Е.В., Ваганова О.Ф., Данилова А.В. Эффективные гены устойчивости пшеницы и ячменя к возбудителям ржавчины и их идентификация в перспективных сортообразцах. Труды 8-ой Международной конференции «Биологическая защита растений – основа стабилизации агроэкосистем». Краснодар, 2014. – 346–348 р.
7. Гультяева Е.И., Шайдаюк Е.Л. Вирулентность российских популяций возбудителя желтой ржавчины пшеницы // Микология и фитопатология. – 2020. – Т. 54. – №. 4. – С. 299–304.
8. Гультяева Е.И., Шайдаюк Е.Л., Рсалиев А.С. Идентификация генов устойчивости к бурой ржавчине у образцов яровой мягкой пшеницы российской и казахстанской селекции // Вестник защиты растений. – 2019. – №. 3 (101). – С. 41–49.
9. Гультяева Е.И., Шайдаюк Е.Л., Шаманин В.П., Ахметова А.К., Тюнин В.А., Шрейдер Е.Р., Моргунов А.И. Генетическая структура российских и казахстанских популяций возбудителя бурой ржавчины *Puccinia triticina* Erikss. по вирулентности и SSR маркерам // Сельскохозяйственная биология. – 2018. – Т. 53. – №. 1. – С. 85–95.
10. Дьяков, Ю.Т. Общая фитопатология : учебное пособие для академического бакалавриата / Ю. Т. Дьяков, С. Н. Еланский. — Москва : Издательство Юрайт,

2017. — 230 с. — (Бакалавр. Академический курс. Модуль). — ISBN 978-5-534-01170-8. — Текст : электронный // Образовательная платформа Юрайт [сайт]. — URL: <https://urait.ru/bcode/399600> (дата обращения: 25.09.2022).
11. Дьяков Ю.Т., Долгова А.В. Вегетативная несовместимость у фитопатогенных грибов. — М.: МГУ, 1995. — 161 с.
 12. Жуковский П.М. Культурные растения и их сородичи Ленинград, 1971. — 752 с.
 13. Киселева М.И., Коломиец Т.М., Сколотнева Е.С., Ветрова М.А. Структура популяции стеблевой ржавчины на посевах озимой и яровой пшеницы в московской области в 2014–2017 гг. // Эпидемии болезней растений: мониторинг, прогноз, контроль. — 2017. — С. 65–73.
 14. Койшыбаев М. Болезни пшеницы. Анкара: Продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН (ФАО). — 2018.
 15. Койшыбаев М., Муминджанов Х. Методические указания по мониторингу болезней, вредителей и сорных растений на посевах зерновых культур // Анкара: Продовольственная и сельскохозяйственная организация Объединенных Наций. — 2016. — Т. 42.
 16. Коновалова Н.Е., Семёнова Л.П., Крыжановская М.С. Идентификация расового состава линейной ржавчины в СССР // Ржавчина хлебных злаков. — М., 1975. — С. 117–123.
 17. Лапочкина И.Ф., Баранова О.А., Гайнуллин Н.Р., Волкова Г.В., Гладкова Е.В., Ковалева Е.О., Осипова А.В. Создание линий озимой пшеницы с несколькими генами устойчивости к *Puccinia graminis* Pers. f. sp. *tritici* для использования в селекционных программах России. Вавиловский журнал генетики и селекции. — 2018. — Т. 22. № 6. — С. 676–684.
 18. Лекомцева С.Н., Волкова В.Т. О специализированных формах возбудителя стеблевой ржавчины в некоторых районах Поволжья // Научные доклады высш. школы. Биологические науки. — 1970. — N 1. — С. 87–92.
 19. Мироненко Н.В., Баранова О.А., Коваленко Н.М., Михайлова Л.А., Россеева Л.П. Генетическая структура популяций *Pyrenophora tritici-repentis*, существующих на территории России, по микросателлитным маркерам // Генетика. — 2016. — Т. 52. — № 8. — С. 885–894.

20. Наумов Н.А., Гешелье Е.Е., Шитикова-Русакова А.А. Ржавчина хлебных злаков в СССР: монографическая сводка. – Сельхозгиз, 1939. – 404 с.
21. Рассадина Е.Г. Расовый состав стеблевой ржавчины пшеницы и его значение для практической селекции: дис. – Всесоюзная ордена Ленина академия сельскохозяйственных наук имени В.И. Ленина; Всесоюзный научно-исследовательский институт защиты растений, 1965.
22. Рсалиев А.С., Рсалиев Ш.С. Основные подходы и достижения в изучении расового состава стеблевой ржавчины пшеницы // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2018. – Т. 22. – №8. С. 967–977.
23. Санин С.С., Кайдаш А.С. Особенности инфекционного процесса у возбудителя линейной ржавчины пшеницы под воздействием света. // Микология и фитопатология. – 1973. – С. 433–437.
24. Сибикеев С.Н., Маркелова Т.С., Дружин А.Е., Веденеева М.Л., Сингх Д. Оценка набора интрогрессивных линий яровой мягкой пшеницы селекции НИИСХ Юго-Востока на устойчивость к расе стеблевой ржавчины Ug99+Sr24 (TTKST) // Докл. РАСХН. – 2011. – Т. 2. – С. 3-5.
25. Синяк Е.В., Волкова Г.В. Распространение и вирулентность популяции возбудителя *Puccinia graminis* pers. f. sp. *tritici* Erikss. et Henn. на юге России // Молодой ученый. – 2015. №. 9–2. – С. 70–71.
26. Сколотнева Е.С., Кельбин В.Н., Моргунов А.И., Бойко Н.И., Шаманин В.П., Салина Е.А. Расовый состав новосибирской популяции *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* // Микология и фитопатология. – 2020. – Т. 54. № 1. – С. 49–58.
27. Сколотнева Е.С., Салина Е.А. Особенности возбудителя стеблевой ржавчины пшеницы в условиях Западной Сибири // Тезисы в сборнике Материалов Международной научно-практической конференции «Защита зерновых культур от болезней, вредителей, сорняков: достижения и проблемы». – 2016. – 67–71 с.
28. Смирнова Л.А. Развитие возбудителя стеблевой ржавчины пшеницы (*Puccinia graminis* Pers. f. sp. *tritici* Erikss. et Henn.) в условиях Северного Кавказа: Автореф. дисс. канд. биол. наук. – 1968.

29. Сочалова Л.П., Лихенко И.Е. Генетическое разнообразие яровой пшеницы по устойчивости к мигрирующим заболеваниям. Новосибирск: ООО Междуречье, 2015.
30. Степанов К.М. Грибные эпифитотии. – М.: Сельхозиздат. 1962. – 472 с.
31. Стэкман Э., Харрар Дж. Основы патологии растений. – М.: Изд-во И.Л., 1959. – 540с.
32. Турапин В.П. Внешние факторы прорастания уредоспор стеблевой ржавчины // Вестник сельскохозяйственной науки, Алма-Ата. – 1971. № 3. – С. 42–44.
33. Фридрихсон Г.А. Ржавчина пшеницы в условиях орошаемого хозяйства Заволжья // Защита растений (ВИЗР). – 1937. – Сб. 12. – С. 35–37.
34. Цадокс И.К. Эпифитиология ржавчины пшеницы в Европе // М.: Колос, 1970 – 239 с.
35. Чикин Ю. А. Общая фитопатология. – Томск: Томск. гос. ун-т. 2001. – 170 с.
36. Шаманин В.П., Моргунов А.И., Петуховский С.Л., Лихенко И.Е., Левшунов М.А., Салина Е.А., Потоцкая И.В., Трущенко А.Ю. Селекция яровой мягкой пшеницы на устойчивость к стеблевой ржавчине в Западной Сибири / под ред. В.П. Шаманина. М-во сел. хоз-ва Рос. Федерации, Федер. гос. бюджет. образоват. учреждение высш. проф. образования «Ом. гос. аграр. ун-т им. П.А. Столыпина», Междунар. центр улучшения кукурузы и пшеницы СИММИТ, Федер. гос. бюджет. науч. учреждение «Сиб. науч.-исслед. ин-т селекции и растениеводства». – Омск: ФГБОУ ВПО ОмГАУ им. П.А. Столыпина, 2015.
37. Шаманин В.П., Потоцкая И.В., Клевакина М.В. Оценка сибирской коллекции яровой мягкой пшеницы на устойчивость к стеблевой ржавчине в условиях южной лесостепи Западной Сибири // Вестник Казанского государственного аграрного университета. – 2016. – Т. 11. – №. 2. – С. 55–59.
38. Abbasi M., Goodwin S.B., Scholler M. Taxonomy, phylogeny, and distribution of *Puccinia graminis*, the black stem rust: new insights based on rDNA sequence data // Mycoscience. – 2005. – Vol. 46. – №. 4. – P. 241–247.
39. Agrios G. N. Plant diseases caused by Mollicutes: phytoplasmas and spiroplasmas // Plant pathology. – 1997. – P. 457–470.
40. Aime M.C., McTaggart A.R., Mondo S.J., Duplessis S. Phylogenetics and Phylogenomics of Rust Fungi // Adv. Genet. – 2017. – Vol. 100. – P. 267–307.

41. Alabushev A.V., Vozhzhova N.N., Kupreyshvili N.T., Shishkin N.V., Marchenko D.M., Ionova E.V. Identification of Stem Rust Resistance Genes in the Winter Wheat Collection from Southern Russia // *Plants*. – 2019. – Vol. 8. – №. 12. – P. 559.
42. Alexopoulos C.J., Alexopoulos C. J., Mims C.W., Blackwell M. *Introductory mycology* // John Wiley and Sons. – 1996. – №. Ed. 4.
43. Anikster Y. The formae speciales // *The cereal rusts*. – 1984. – Vol. 1. – P. 115–300.
44. Anikster Y., Bushnell W.R., Roelfs A.P., Eilam T., Manisterski J. *Puccinia recondita* causing leaf rust on cultivated wheats, wild wheats, and rye // *Canadian journal of botany*. – 1997. – Vol. 75. – №. 12. – P. 2082–2096.
45. Anikster Y., Wahl I. Coevolution of the rust fungi on Gramineae and Liliaceae and their hosts // *Annual Review of Phytopathology*. – 1979. – Vol. 17. – №. 1. – P. 367–403.
46. Ayliffe M., Jin Y., Kang Z., Persson M., Steffenson B., Wang S., Leung H. Determining the basis of nonhost resistance in rice to cereal rusts // *Euphytica*. – 2011. – Vol. 179. – №. 1. – P. 33–40.
47. Baranova O.A., Lapochkina I.F., Anisimova A.V., Gajnullin N.R., Iordanskaya I.V., Makarova I.Y. Identification of *Sr* genes in new common wheat sources of resistance to stem rust race Ug99 using molecular markers // *Russian Journal of Genetics: Applied Research*. – 2016. – Vol.6. – №. 3. – P. 344–350.
48. Baranova O.A., Sibikeev S.N., Druzhin A.E. Molecular identification of the stem rust resistance genes in the introgression lines of spring bread wheat // *Vavilov J. Genet. Breed.* – 2019. – Vol. 23. № 3. – P. 296–303.
49. Bariana H.S. Brown G.N., Bansal U.K., Miah H., Standen G.E., Lu M. Breeding triple rust resistant wheat cultivars for Australia using conventional and marker-assisted selection technologies // *Australian Journal of Agricultural Research*. – 2007. – Vol. 58. № 6. – P. 576–587.
50. Bariana H.S., McIntosh R.A. Cytogenetic studies in wheat. XV. Location of rust resistance genes in VPM1 and their genetic linkage with other disease resistance genes in chromosome 2A // *Genome*. – 1993. – Vol. 36. – №. 3. – P. 476–482.
51. Barnes C.W., Szabo L.J. Detection and identification of four common rust pathogens of cereals and grasses using real-time polymerase chain reaction // *Phytopathology*. – 2007. – Vol. 97. №. 6. – P. 717–727.
52. Berlin A., Djurle A., Samils B., Yuen J. Genetic variation in *Puccinia graminis* collected

- from oats, rye, and barberry // *Phytopathology*. – 2012. – Vol. 102. №. 10. – P. 1006–1012.
53. Berlin A., Samils B., Andersson B. Multiple genotypes within aecial clusters in *Puccinia graminis* and *Puccinia coronata*: improved understanding of the biology of cereal rust fungi // *Fungal biology and biotechnology*. – 2017. – Vol. 4. №. 1. – P. 3.
 54. Bernardo A.N., Bowden R.L., Rouse M.N., Newcomb M.S., Marshall D.S., Bai, G. Validation of molecular markers for new stem rust resistance genes in US hard winter wheat // *Crop Science*. – 2013. – Vol. 53. № 3. – P. 755–764.
 55. Bhardwaj S.C., Nayar S.K., Prashar M., Kumar J., Menon M.K., Singh S.B. A pathotype of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* on Sr24 in India // *Cereal Rusts and Powdery Mildews Bulletin*. – 1990. – Vol. 18. № 1. – P. 35–38.
 56. Briggs J., Chen S., Zhang W., Nelson S., Dubcovsky J., Rouse M.N. Mapping of *SrTm4*, a recessive stem rust resistance gene from diploid wheat effective to Ug99 // *Phytopathology*. – 2015. – Vol. 105. №. 10. – P. 1347–1354.
 57. Brown G.N. A seedling marker for gene *Sr2* in wheat // *Proceedings of the tenth Australian plant breeding conference*. – 1993. – Vol. 2. – P. 139–140.
 58. Brown J.F., Shipton W.A. Some environmental factors influencing penetration from appressoria of *Puccinia graminis* f sp *tritici* on seedling wheat leaves // *Phytopathology*. – 1964. – Vol. 54. №. 8. – P. 949–&.
 59. Buller A.H.R. The violent discharge of aecidiospores // *In Researches on Fungi*. – 1958. – Vol. 3. – P. 552–559.
 60. Burrage S.W. Environmental factors influencing the infection of wheat by *Puccinia graminis* // *Annals of Applied Biology*. – 1970. – Vol. 66. – №. 3. – P. 429–440.
 61. Carver B.F., Rayburn A.L. Comparison of related wheat stocks possessing 1B or 1RS. 1BL chromosomes: agronomic performance // *Crop Science*. – 1994. – Vol. 34. № 6. – P. 1505–1510.
 62. Catanzariti A.M., Dodds P.N., Lawrence G.J., Ayliffe M.A., Ellis J.G. Haustorially expressed secreted proteins from flax rust are highly enriched for avirulence elicitors // *The Plant Cell*. – 2006. – Vol. 18. №. 1. – P. 243–256.
 63. Cauderon Y., Saigne B., Dauge M. The resistance to wheat rusts of *Agropyron intermedium* and its use in wheat improvement. *Proc. 4th Int. Wheat Genet. Symp.* Columbia, Missouri, USA, 1973. – P. 401–407.

64. Cesari S. Multiple strategies for pathogen perception by plant immune receptors // *New Phytologist*. – 2018. – Vol. 219. – №. 1. – P. 17–24.
65. Chen S., Guo Y., Briggs J., Dubach F., Chao S., Zhang W., Dubcovsky J. Mapping and characterization of wheat stem rust resistance genes *SrTm5* and *Sr60* from *Triticum monococcum* // *Theoretical and applied genetics*. – 2018. – Vol. 131. – №. 3. – P. 625–635.
66. Chen S., Rouse M.N., Zhang W., Jin Y., Akhunov E., Wei Y., Dubcovsky, J. Fine mapping and characterization of *Sr21*, a temperature-sensitive diploid wheat resistance gene effective against the *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* Ug99 race group // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2015. – Vol. 128. №. 4. – P. 645–656.
67. Chester K.S. The nature and prevention of the cereal rusts as exemplified in the leaf rust of wheat. // *The nature and prevention of the cereal rusts as exemplified in the leaf rust of wheat*. – 1946.
68. Cotter R.U. Factors affecting the development of the aecial stage of *Puccinia graminis* // *US Department of Agriculture*. – 1932. – №. 314.
69. Cotter R.U., Roberts B.J. Physiologic races of *Puccinia graminis* in the united states in 1963 // *U.S. Agr. Res. Serv. Plant Dis. Rptr.* – 1963. №. 49. – P. 63–67.
70. Craigie J.H. The origin of physiologic races of rust fungi through hybridization // *The origin of physiologic races of rust fungi through hybridization*. – 1940. – №. 12.
71. Cummins G.B. The rust fungi of cereals, grasses, and bamboos // *New York, USA: Springer-Verlag*. – 1971. – P. 570.
72. Dakouri A., McCallum B.D., Walichnowski A.Z., Cloutier S. Fine-mapping of the leaf rust *Lr34* locus in *Triticum aestivum* (L.) and characterization of large germplasm collections support the ABC transporter as essential for gene function // *Theoretical and applied genetics*. – 2010. – Vol. 121. № 2. – P. 373–384.
73. DeYoung B.J., Innes R.W. Plant NBS-LRR proteins in pathogen sensing and host defense // *Nature immunology*. – 2006. – Vol. 7. – №. 12. – P. 1243–1249.
74. Ding Z., Fu L., Yan Y., Tie W., Xia Z., Wang W., Peng M., Hu W., Zhang J. Genome-wide characterization and expression profiling of HD-Zip gene family related to abiotic stress in cassava // *PloS one*. – 2017. – Vol. 12. №. 3. – P. e0173043.
75. Dodds P.N. Lawrence G.J., Catanzariti A.M., Teh T., Wang C.I., Ayliffe M. A., Ellis J.G. Direct protein interaction underlies gene-for-gene specificity and coevolution of the flax

- resistance genes and flax rust avirulence genes // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2006. – Vol. 103. – №. 23. – P. 8888–8893.
76. Dodds P.N., Rathjen J.P. Plant immunity: towards an integrated view of plant–pathogen interactions // Nature Reviews Genetics. – 2010. – Vol. 11. – №. 8. – P. 539–548.
77. Dundas I.S., Anugrahwati D.R., Verlin D.C., Park R.F., Bariana H.S., Mago R., Islam A.K.M.R. New sources of rust resistance from alien species: meliorating linked defects and discovery // Australian Journal of Agricultural Research. – 2007. – Vol. 58. № 6. – P. 545–549.
78. Duplessis S., Cuomo C.A., Lin Y.C., Aerts A., Tisserant E., Veneault-Fourrey C., Martin F. Obligate biotrophy features unraveled by the genomic analysis of rust fungi // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2011. – Vol. 108. – №. 22. – P. 9166–9171.
79. Duplessis S., Joly D.L., Dodds P.N., Martin F., Kamoun S. Rust effectors // Effectors in plant-microbe interactions. – 2012. – P. 155–193.
80. Dyck P.L., Lukow O.M. The genetic analysis of two interspecific sources of leaf rust resistance and their effect on the quality of common wheat // Canadian Journal of Plant Science. – 1988. – Vol. 68. – №. 3. – P. 633–639.
81. Ellis J.G., Lagudah E.S., Spielmeier W., Dodds P.N. The past, present and future of breeding rust resistant wheat // Frontiers in plant science. – 2014. – Vol. 5. – P. 641.
82. Ellis J.G., Mago R., Kota R., Dodds P.N., McFadden H., Lawrence G., Spielmeier W., Lagudah E. Wheat rust resistance research at CSIRO // Australian Journal of Agricultural Research. – 2007. – Vol. 58. №. 6. – P. 507–511.
83. Eriksson J. Ueber die Specialisirung des Parasitismus bei den Getreiderostpilzen // Ber Dtsch Bot Ges. – 1894. – Vol. 12. – P. 292–331.
84. Eriksson J. A general review of the principal results of Swedish research into grain rust // Botanical Gazette. – 1898. – Vol. 25. – №. 1. – P. 26–38.
85. Fetch T., Mitchell Fetch J., Zegeye T., Xue A. Races of *Puccinia graminis* on wheat, oat, and barley in Canada in 2009 and 2010 // Canadian Journal of Plant Pathology. – 2015. – Vol. 37. №. 4. – P. 476–484.
86. Fetch T., Zegeye T., Park R.F., Hodson D., Wanyera R. Detection of wheat stem rust races TTHSK and PTKTK in the Ug99 race group in Kenya in 2014 // Plant Disease. – 2016. – Vol. 100. – №. 7. – P. 1495–1495.

87. Figueroa M., Upadhyaya N.M., Sperschneider J., Park R.F., Szabo L.J., Steffenson B., Ellis J.G., Dodds P.N. Changing the game: using integrative genomics to probe virulence mechanisms of the stem rust pathogen *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* // *Frontiers in plant science*. – 2016. – Vol. 7. – P. 205.
88. Flath K., Miedaner T., Olivera P.D., Rouse M.N., Yue J. Genes for wheat stem rust resistance postulated in German cultivars and their efficacy in seedling and adult-plant field tests // *Plant Breed.* – 2018. – Vol. 00. – P. 1–12.
89. Flor H.H. Current status of the gene-for-gene concept // *Annual review of phytopathology*. – 1971. – Vol. 9. № 1. – P. 275–296.
90. Flor H.H. Inheritance of reaction to rust in flax // *J. Agric. Res.* – 1947. – Vol. 74. № 9. – P. 41.
91. Freeman B.C., Beattie G.A. An overview of plant defenses against pathogens and herbivores. *The Plant Health Instructor*. DOI: 10.1094. – PHI-I-2008-0226-01, 2008.
92. Friebe B., Jiang J., Raupp W.J., McIntosh R.A., Gill B.S. Characterization of wheat-alien translocations conferring resistance to diseases and pests: current status. *Euphytica*. – 1996. – Vol. 91. № 1. – P. 59–87.
93. Garnica D.P., Nemri A., Upadhyaya N.M., Rathjen J.P., Dodds P.N. The ins and outs of rust haustoria // *PLoS Pathog.* – 2014. – Vol. 10. – № 9. – P. e1004329.
94. Gousseau H.D.M., Deverall B.J., McIntosh R.A. Temperature-sensitivity of the expression of resistance to *Puccinia graminis* conferred by the *Sr15*, *Sr9b* and *Sr14* genes in wheat // *Physiological Plant Pathology*. – 1985. – Vol. 27. – № 3. – P. 335–343.
95. Gulyaeva E.I., Aristova M.K., Shaidayuk E.L., Mironenko N.V., Kazartsev I.A., Akhmetova A., Kosman E. Genetic differentiation of *Puccinia triticina* Erikss. in Russia // *Russian Journal of Genetics*. – 2017. – Vol. 53. № 9. – P. 998–1005.
96. Gupta S.K., Charpe A., Prabhu K.V., Haque Q.M.R. Identification and validation of molecular markers linked to the leaf rust resistance gene *Lr19* in wheat // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2006. – Vol. 113. – № 6. – P. 1027–1036.
97. Guttman D.S., McHardy A.C., Schulze-Lefert P. Microbial genome-enabled insights into plant–microorganism interactions // *Nature Reviews Genetics*. – 2014. – Vol. 15. – № 12. – P. 797–813.

98. Hare R.A., McIntosh R.A. Genetic and cytogenetic studies of the durable adult plant resistance in Hope and related cultivars to wheat rusts // *Z. Pflanzenzuchtg.* – 1979. – Vol. 83. – P. 35–670.
99. Harrison N.R., Fritz A.K., Glasscock J.I., Ahmed S., Messina D.N., Amand P.S., Fellers J.P. Using RNA sequencing and in silico subtraction to identify resistance gene analog markers for *Lr16* in wheat // *The Plant Genome.* – 2015. – Vol. 8. – №. 2. – P. plantgenome2014.08.0040.
100. Hart H. Relation of stomatal behavior to stem-rust resistance in wheat // *J. agric. Res.* – 1929. – Vol. 39. – P. 929–48.
101. Harvey H.L. Stem rust of wheat // *J. Agric. West. Aust.* – 1964. – Vol. 5. № 10. – P. 837–838.
102. Helguera M., Khan I.A., Kolmer J., Lijavetzky D., Zhong-Qi L., Dubcovsky J. PCR assays for the *Lr37-Yr17-Sr38* cluster of rust resistance genes and their use to develop isogenic hard red spring wheat lines // *Crop science.* – 2003. – Vol. 43. – №. 5. – P. 1839–1847.
103. Jiang J., Friebe B., Gill B.S. Chromosome painting of Amigo wheat // *Theoretical and Applied Genetics.* – 1994. – Vol. 89. № 7–8. – P. 811–813.
104. Jin Y. Role of *Berberis* spp. as alternate hosts in generating new races of *Puccinia graminis* and *P. striiformis* // *Euphytica.* – 2011. – Vol. 179. №. 1. – P. 105–108.
105. Jin Y., Singh R.P., Ward R.W., Wanyera R., Kinyua M., Njau P., Fetch T., Pretorius Z.A., Yahyaoui A. Characterization of seedling infection types and adult plant infection responses of monogenic *Sr* gene lines to race TTKS of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* // *Plant Disease.* – 2007. – Vol. 91. № 9. – P. 1096–1099.
106. Jin Y., Szabo L.J., Pretorius Z.A., Singh R.P., Ward R., Fetch T., Jr. Detection of virulence to resistance gene *Sr24* within race TTKS of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* // *Plant Dis.* – 2008. – Vol. 92. – P. 923–926.
107. Jin Y., Szabo L.J., Rouse M.N., Fetch T., Jr Pretorius, Z.A., Wanyera R., Njau P. Detection of virulence to resistance gene *Sr36* within the TTKS race lineage of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* // *Plant Dis.* – 2009. – Vol. 93. № 4. – P. 367–370.
108. Johnson B.T. Variation in the rusts of cereals 1 // *Biological Reviews.* – 1953. – Vol. 28. №. 2. – P. 105–157.

109. Johnson T., Newton M. The occurrence of new strains of *Puccinia triticina* in Canada and their bearing on varietal reaction // Scientific Agriculture. – 1946. – Vol. 26. №. 9. – P. 468–478.
110. Jones J.D.G., Dangl J.L. The plant immune system // Nature. – 2006. – Vol. 444. – №. 7117. – P. 323–329.
111. Karelov A.V., Pirko Y.V., Kozub N.A., Sozinov I.A., Pirko N.N., Litvinenko, N.A., Lyfenko S.F., Koliuchii V.T., Blume Ya.B., A.A., Sozinov A.A. Identification of the allelic state of the *Lr34* leaf rust resistance gene in soft winter wheat cultivars developed in Ukraine // Cytology and Genetics. – 2011. – Vol. 45. № 5. – P. 271.
112. Katsuya K., Green G.J. Reproductive potentials of races 15B and 56 of wheat stem rust // Canadian Journal of Botany. – 1967. – Vol. 45. №. 7. – P. 1077–1091.
113. Kelbin V., Skolotneva E., Vidich S. Salina E.A. Stem rust infection in Novosibirsk region: life cycle and origin. Poland: Proceedings of the international XVIII Congress of European Mycologists, Warsaw and Białowieża, 2019.
114. Kemen A.C., Agler M.T., Kemen E. Host–microbe and microbe–microbe interactions in the evolution of obligate plant parasitism // New Phytologist. – 2015. – Vol. 206. – №. 4. – P. 1207–1228.
115. Kerber E.R., Dyck P.L. Transfer to hexaploid wheat of linked genes for adult-plant leaf rust and seedling stem rust resistance from an amphiploid of *Aegilops speltoides* × *Triticum monococcum*. Genome. – 1990. – Vol. 33. № 4. – P. 530–537.
116. Kislev M.E. Stem rust of wheat 3300 years of old found in Israel // Science. – 1982. – Vol. 216. – P. 993–994.
117. Knott D.R. Near-isogenic lines of wheat carrying genes for stem rust resistance // Crop science. – 1990. – Vol. 30. – №. 4. – P. 901–905.
118. Knott D.R. The inheritance of rust resistance. VI. The transfer of stem rust resistance from *Agropyron elongatum* to common wheat // Canadian Journal of Plant Science. – 1961. – Vol. 41. № 1. – P. 109–123.
119. Koishybaev M. Wheat diseases: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) // Antara. – 2018. – Vol. 394.
120. Kolmer J.A., Chen X., Jin Y. Diseases which challenge global wheat production—the cereal rusts // Wheat: science and trade. – 2009. – P. 89–124.

121. Kolmer J.A., Mirza J.I., Imtiaz M., Shah S. Genetic differentiation of the wheat leaf rust fungus *Puccinia triticina* in Europe // Plant pathology. – 2013. – Vol. 62. № 1. – P. 21–31.
122. Kolmer J.A., Singh R.P., Garvin D.F., Viccars L., William H.M., Huerta-Espino J., Ogbonnaya F.C., Raman H., Orford S., Bariana H.S., Lagudah E.S. Analysis of the *Lr34/Yr18* rust resistance region in wheat germplasm // Crop Science. – 2008. – Vol. 48. № 5. – P. 1841–1852.
123. Krattinger S.G., Lagudah E.S., Spielmeyer W., Singh R.P., Huerta-Espino J., McFadden H., Bossolini E., Selter L.L., Keller B. A putative ABC transporter confers durable resistance to multiple fungal pathogens in wheat // Science. – 2009. – Vol. 323. № 5919. – P. 1360–1363.
124. Labuschagne M.T., Pretorius Z.A., Grobbelaar B. The influence of leaf rust resistance genes *Lr29*, *Lr34*, *Lr35* and *Lr37* on breadmaking quality in wheat // Euphytica. – 2002. – Vol. 124. № 1. – P. 65–70.
125. Lagudah E.S., Krattinger S.G., Herrera-Foessel S.A., Singh R.P., Huerta-Espino J., Spielmeyer W., Brown-Guedira G., Selter L.L., Keller B. Gene-specific markers for the wheat gene *Lr34/Yr18/Pm38* which confers resistance to multiple fungal pathogens // Theoretical and Applied Genetics. – 2009. – Vol. 119. № 5. – P. 889–898.
126. Lagudah E.S., McFadden H., Singh R.P., Huerta-Espino J., Bariana H.S., Spielmeyer, W. Molecular genetic characterization of the *Lr34/Yr18* slow rusting resistance gene region in wheat // Theoretical and Applied Genetics. – 2006. – Vol. 114. – № 1. – P. 21–30.
127. Lambert E. The relation of weather to the development of stem rust in the Mississippi Valley.: дис. – University of Minnesota, 1929.
128. Lelley T., Eder C., Grausgruber H. Influence of 1BL. 1RS wheat-rye chromosome translocation on genotype by environment interaction // Journal of Cereal Science. – 2004. – Vol. 39. № 3. – P. 313–320.
129. Leonard K.J., Szabo L.J. Stem rust of small grains and grasses caused by *Puccinia graminis* // Molecular plant pathology. – 2005. – Vol. 6. № 2. – P. 99–111.
130. Leonova I.N., Skolotneva E.S., Orlova E.A., Orlovskaya O.A., Salina E.A. Detection of genomic regions associated with resistance to stem rust in Russian spring

- wheat varieties and breeding germplasm // Int. J. Mol. Sci. – 2020. – Vol. 21. № 13. – P. 4706.
131. Leppik E.E. Some viewpoints on the phylogeny of rust fungi. IV. Stem rust genealogy // Mycologia. – 1961. – Vol. 53. № 4. – P. 378–405.
 132. Lewis C.M., Persoons A., Bebber D.P., Kigathi R.N., Maintz J., Findlay K., Bueno-Sancho V., Corredor-Moreno P., Harrington S.A., Kangara N., Berlin A., García R., Germán SE., Hanzalová A., Hodson D.P., Hovmöller M.S., Huerta-Espino J., Imtiaz M., Mirza J.I., Justesen A.F., Niks R.E., Omrani A., Patpour M., Pretorius Z.A., Roohparvar R., Sela H., Singh R.P., Steffenson B., Visser B., Fenwick P.M., Thomas J., Wulff B.B.H., Saunders D.G.O. Potential for re-emergence of wheat stem rust in the United Kingdom // Communications biology. – 2018. – Vol. 1. № 1. – P. 1–9.
 133. Li F., Upadhyaya N.M., Sperschneider J., Matny O., Nguyen-Phuc H., Mago R., Raley C., Miller M.E., Silverstein K.A.T., Henningsen E., Hirsch C.D., Visser B., Pretorius Z.A., Steffenson B.J., Schwessinger B., Dodds P.N., Figueroa M. Emergence of the Ug99 lineage of the wheat stem rust pathogen through somatic hybridisation // Nature communications. – 2019. – Vol. 10. № 1. – P. 1–15.
 134. Li T.Y., Ma Y.C., Wu X.X., Chen S., Xu X.F., Wang H., Cao Y.Y., Xuan Y.H. Race and virulence characterization of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* in China // PLoS One. – 2018. – Vol. 13. № 5. – P. 1–9.
 135. Li T.Y., Wu X.X., Xu X.F., Wang W.L., Cao Y.Y. Postulation of seedling stem rust resistance genes of Yunnan wheat cultivars in China // Plant Protection Science. – 2016. – Vol. 52. – P. 242–249.
 136. Liu H., Bayer M., Druka A., Russell J.R., Hackett C.A., Poland J., Ramsay L., Hedley P.E., Waugh R. An evaluation of genotyping by sequencing (GBS) to map the Breviaristatum-e (ari-e) locus in cultivated barley // BMC genomics. – 2014. – Vol. 15. № 1. – P. 104.
 137. Liu W., Danilova T.V., Rouse M.N., Bowden R.L., Friebe B., Gill B.S., Pumphrey M.O. Development and characterization of a compensating wheat-*Thinopyrum intermedium* Robertsonian translocation with *Sr44* resistance to stem rust (Ug99) // Theoretical and Applied Genetics. – 2013. – Vol. 126. № 5. – P. 1167–1177.
 138. Loconte H., Estes J.R. Generic relationships within Leonticeae (Berberidaceae) // Canadian journal of botany. – 1989. – Vol. 67. – № 8. – P. 2310–2316.

139. Lücking R., Aime M.C., Robbertse B., Miller A.N., Ariyawansa H.A., Aoki T., Schoch C.L. Unambiguous identification of fungi: where do we stand and how accurate and precise is fungal DNA barcoding? // *IMA fungus*. – 2020. – Vol. 11. – №. 1. – P. 1–32.
140. Luig N.H. A survey of virulence genes in wheat stem rust, *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* // *Fortschritte der Pflanzenzuechtung* (Germany). – 1983.
141. Luig N.H. The role of barley, rye and grasses in the 1973–74 wheat stem rust epiphytotic in southern and eastern australia. – 1977.
142. Luig N.H., Watson I.A. The role of wild and cultivated grasses in the hybridization of formae speciales of *Puccinia graminis* // *Australian Journal of Biological Sciences*. – 1972. – Vol. 25. №. 2. – P. 335–342.
143. Mago R., Bariana H.S., Dundas I.S., Spielmeyer W., Lawrence G.J., Pryor A.J., Ellis J.G. Development of PCR markers for the selection of wheat stem rust resistance genes *Sr24* and *Sr26* in diverse wheat germplasm // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2005. – Vol. 111. – №. 3. – P. 496–504.
144. Mago R., Simkova H., Brown-Guedira G., Dreisigacker S., Breen J., Jin Y., Singh R., Appels R., Lagudah E.S., Ellis J., Dolezel J., Spielmeyer W. An accurate DNA marker assay for stem rust resistance gene *Sr2* in wheat // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2011. – Vol. 122. – № 4. – P. 735–744.
145. Mago R., Zhang P., Bariana H.S., Verlin D.C., Bansal U.K., Ellis J.G., Dundas I.S. Development of wheat lines carrying stem rust resistance gene *Sr39* with reduced *Aegilops speltoides* chromatin and simple PCR markers for marker-assisted selection // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2009. – Vol. 119. – № 8. – P. 1441–1450.
146. Mago R., Zhang P., Vautrin S., Šimková H., Bansal U., Luo M.C., Rouse M., Karaoglu H., Periyannan S., Kolmer J., Jin Y., Ayliffe M.A., Bariana H., Park R.F., McIntosh R., Doležel J., Bergès H., Spielmeyer W., Lagudah E.S., Ellis J.G., Dodds P.N. The wheat *Sr50* gene reveals rich diversity at a cereal disease resistance locus // *Nature plants*. – 2015. – Vol. 1. №. 12. – P. 15186.
147. Maia N. Obtention des bles tendres résistants au piétin-verse par croisements interspécifiques bles x *Aegilops* // *CR Acad. Agric. Fr.* – 1967. – Vol. 53. – P. 149–154.
148. Margulis L., Chapman M. J. Chapter Four-KINGDOM FUNGI // *Kingdoms and Domains*. – 2009. – P. 379–409.

149. Martens J.W., Dunsmore K.M., Harder D.E. Incidence and virulence of *Puccinia graminis* in Canada on wheat and barley in 1988 // Canadian Journal of Plant Pathology. – 1989. – Vol. 11. №. 4. – P. 424–430.
150. McAlpine D. The rusts of Australia: their structure, nature, and classification. // RS Brain, government printer. – 1906.
151. McFadden E.S. A Successful Transfer of Emmer Characters to Vulgare Wheat 1 // Agronomy journal. – 1930. – Vol. 22. № 12. – P. 1020–1034.
152. McIntosh R.A. The role of specific genes in breeding for durable stem rust resistance in wheat and triticale. Breeding strategies for resistance to the rusts of wheat. CIMMYT. Mexico, 1988. – 1–9 p.
153. McIntosh R.A., Dubcovsky J., Rogers J.W., Morris C.F., Appels R., Xia X.C. Catalogue of gene symbols for wheat: 2011 supplement // Annual wheat newsletter. – 2010. – Vol. 57.
154. McIntosh R.A., Hart G., Gale M. Catalogue of gene symbols for wheat. Proc. of the 8th Intern. Wheat Genet. Symp. China, 1993. – P. 1333–1500.
155. McIntosh R.A., Luig N.H. Linkage of genes for reaction to *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* and *P. recondita* in Selkirk wheat and related cultivars // Australian Journal of Biological Sciences. – 1973. – Vol. 26. – №. 5. – P. 1145–1152.
156. McIntosh R.A., Wellings C.R., Park R.F. Wheat rusts: an atlas of resistance genes. – CSIRO publishing, 1995.
157. McIntosh, R.A.; Yamazaki, Y.; Dubcovsky, J.; Rogers, W.J.; Morris, C.; Appel, S.; Xia, X.C. Catalogue of Gene Symbols for Wheat. 2013. Supplements 2014–2017. Available online: [http://shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/ genes/](http://shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/) (accessed on 16 June 2020).
158. McVey D.V., Roelfs A.P. Postulation of genes for stem rust resistance in the entries of the fourth international winter wheat performance nursery. Crop Science. – 1975. – Vol. 15. – № 3. – P. 335–337.
159. Mendgen K. Development and physiology of teliospores. – 1983.
160. Micheli P.A. Nova plantarum genera. – 1729.
161. Michiels A.N., Van den Ende W., Tucker M., Van Riet L., Van Laere A. Extraction of high-quality genomic DNA from latex-containing plants // Analytical biochemistry. – 2003. – Vol. 315. – №. 1. – P. 85–89.

162. Miranda L.M., Perugini L., Srnić G., Brown-Guedira G., Marshall D., Leath S., Murphy J.P. Genetic mapping of a *Triticum monococcum*-derived powdery mildew resistance gene in common wheat // Crop Science. – 2007. – Vol. 47. – №. 6. – P. 2323–2329.
163. Mishra A.N., Kaushal K., Yadav S.R., Shirsekar G.S., Pandey H.N. The linkage between the stem rust resistance gene *Sr2* and pseudo-black chaff in wheat can be broken // Plant breeding. – 2005. – Vol. 124. – №. 5. – P. 520–522.
164. Mont R.M. Studies on nonspecific resistance to stem rust in spring wheat. – 1970.
165. Moore J.W., Herrera-Foessel S., Lan C., Schnippenkoetter W., Ayliffe M., Huerta-Espino J., Lillemo M., Viccars L., Milne R., Periyannan S., Kong X., Spielmeyer W., Talbot M., Bariana H., Patrick J.W., Dodds P., Singh R., Lagudah E. A recently evolved hexose transporter variant confers resistance to multiple pathogens in wheat // Nature genetics. – 2015. – Vol. 47. – №. 12. – P. 1494.
166. Nagarajan S., Singh H., Joshi L.M., Saari E.E. Meteorological conditions associated with long distance dissemination and deposition of *Puccinia graminis tritici* uredospores in India // Phytopathology. – 1976. – Vol. 66. – P. 198–203.
167. Newcomb M., Olivera P.D., Rouse M.N., Szabo L.J., Johnson J., Gale S., Jin Y. Kenyan isolates of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* from 2008 to 2014: Virulence to *SrTmp* in the Ug99 race group and implications for breeding programs // Phytopathology. – 2016. – Vol. 106. – №. 7. – P. 729–736.
168. Novotelnova N.S. Some observations on the conditions for the germination of teleutospores and basidiospores of *Puccinia graminis* f. sp. *avenae* and uredospores of *P. triticina* // Zashch. Rast. (Leningrad). – 1935. – Vol. 4. – P. 98–106.
169. Olson E.L., Brown-Guedira G., Marshall D.S., Jin Y., Mergoum M., Lowe I., Dubcovsky J. Genotyping of US wheat germplasm for presence of stem rust resistance genes *Sr24*, *Sr36* and *Sr1RSAmigo* // Crop science. – 2010. – Vol. 50. – №. 2. – P. 668–675.
170. Ordoñez M.E., German S.E., Kolmer J.A. Genetic differentiation within the *Puccinia triticina* population in South America and comparison with the North American population suggests common ancestry and intercontinental migration // Phytopathology. – 2010. – Vol. 100. – №. 4. – P. 376–383.

171. Park R.F. Stem rust of wheat in Australia // Australian Journal of Agricultural Research. – 2007. – Vol. 58. – №. 6. – P. 558–566.
172. Park R.F., Bariana H.S., Wellings C.R., Wallwork H. Detection and occurrence of a new pathotype of *Puccinia triticina* with virulence for *Lr24* in Australia // Crop Pasture Sci. – 2002. – Vol. 53. – № 9. – P. 1069–1076.
173. Park R.F., Wellings C.R. Somatic Hybridization in the Uredinales // Annu. Rev. Phytopathol. – 2012. – Vol. 50. – P. 219–239.
174. Patpour M. (a), Hovmöller M.S., Justesen A.F., Newcomb M., Olivera P., Jin Y., Szabo J., Hodson D., Shahin A.A., Wanyera R., Habarurema I., Wobibi S. Emergence of Virulence to *SrTmp* in the Ug99 Race Group of Wheat Stem Rust, *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*, in Africa // Plant Dis.– 2016. –Vol. 100. – № 2. – P. 522–522.
175. Patpour M. (б), Hovmöller M.S., Shahin A.A., Newcomb M., Olivera P., Jin Y., Luster D., Hodson D., Nazari K., Azab M. Kenyan isolates of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* from 2008 to 2014: Virulence to *SrTmp* in the Ug99 race group and implications for breeding programs // Phytopathology. – 2016. – Vol. 106. – №. 7. – P. 729–736.
176. Peltier G.L. Relation of weather to the prevalence of wheat stem rust in Nebraska // J. Agr. Res. – 1933. – Vol. 46. – P. 59–73.
177. Periyannan S., Moore J., Ayliffe M., Bansal U., Wang X., Huang L., Deal K., Luo M., Kong X., Bariana H., Mago R., McIntosh R., Dodds P., Dvorak J., Lagudah E. The gene *Sr33*, an ortholog of barley *Mla* genes, encodes resistance to wheat stem rust race Ug99 // Science. – 2013. – Vol. 341. №. 6147. – P. 786-788.
178. Peterson R.F., Campbell A.B., Hannah A.E. A diagrammatic scale for estimating rust intensity on leaves and stems of cereals // Canadian journal of research. – 1948. – Vol. 26. – №. 5. – P. 496–500.
179. Pretorius Z.A. Practical Exercise in Infection Type Scoring and Pathotype Identification.: The Science Media Production Center at Cornell, 2015.
180. Pretorius Z.A., Bender C.M., Visser B., Terefe T. First report of a *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* race virulent to the *Sr24* and *Sr31* wheat stem rust resistance genes in South Africa // Plant Dis. – 2010. – Vol. 94. – P. 784.

181. Pretorius Z.A., Pakendorf K.W., Marais G.F., Prins R., Komen J.S. Challenges for sustainable cereal rust control in South Africa // Australian Journal of Agricultural Research. – 2007. – Vol. 58. – №. 6. – P. 593–601.
182. Rabinovich S.V. Importance of wheat-rye translocations for breeding modern cultivar of *Triticum aestivum* L. Euphytica. – 1998. – Vol. 100. – № 1–3. – P. 323–340.
183. Robert O., Abelard C., Dedryver F. Identification of molecular markers for the detection of the yellow rust resistance gene *Yr17* in wheat // Molecular breeding. – 1999. – Vol. 5. – №. 2. – P. 167–175.
184. Roelfs A.P. Effects of Barberry eradication // Plant Disease. – 1982. – Vol. 66. – №. 2. – P. 177.
185. Roelfs A.P. Rust diseases of wheat: concepts and methods of disease management. – Cimmyt, 1992.
186. Roelfs A.P., Long D.L., Roberts J.J. Races of *Puccinia graminis* in the United States during 1990 // Plant disease. – 1993. – Vol. 77. – №. 2. – P. 125–128.
187. Roelfs A.P., Martens J.W. An international system of nomenclature for *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* // Phytopathology. – 1988. – Vol. 78. № 5 – P. 526–533.
188. Roux J.L. First report of a *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* race with virulence for *Sr24* in South Africa // Plant Disease. – 1985. – Vol. 69. № 11.
189. Rowell J.B., Olien C.R., Wilcoxson R.D. Effect of certain environmental conditions on infection of wheat by *Puccinia graminis* // Phytopathology. – 1958. – Vol. 48. – №. 7. – P. 371–377.
190. Rowell J.B., Roelfs A.P. Evidence for an unrecognized source of overwintering wheat stem rust in the United States // Plant disease reporter. – 1971.
191. Saintenac C., Zhang W., Salcedo A., Rouse M.N., Trick H.N., Akhunov E., Dubcovsky J. Identification of wheat gene *Sr35* that confers resistance to Ug99 stem rust race group // Science. – 2013. – Vol. 341. – №. 6147. – P. 783–786.
192. Salina E.A., Adonina I.G., Badaeva E.D., Kroupin P.Y., Stasyuk A.I., Leonova I.N., Shishkina A.A., Divashuk M.G., Starikova E.V., Khuat T.M., Syukov V.V., Karlov G.I. A *Thinopyrum intermedium* chromosome in bread wheat cultivars as a source of genes conferring resistance to fungal diseases. Euphytica. – 2015. – Vol. 204. – № 1. – P. 91–101.

193. Savile D.B.O. Taxonomy of the cereal rust fungi // The cereal rusts, Origins, specificity, structures, and physiology. – 1984. – P. 79–112.
194. Schafer J.F. Rusts, smuts, and powdery mildew // Wheat and wheat improvement. – 1987. – Vol. 13. – P. 542–584.
195. Schlegel R. Current list of wheats with rye and alien introgression. V05. – 2010. – Vol. 8. – P. 1–14.
196. Seah S., Bariana H., Jahier J., Sivasithamparam K., Lagudah E.S. The introgressed segment carrying rust resistance genes *Yr17*, *Lr37* and *Sr38* in wheat can be assayed by a cloned disease resistance gene-like sequence // Theoretical and Applied Genetics. – 2001. – Vol. 102. – №. 4. – P. 600–605.
197. Sears E.R. Agropyron-wheat transfers induced by homoeologous pairing. Proceedings. Fourth International Wheat Genetics Symposium. Columbia. MO. Agriculture Experiment Station. College of Agriculture. University of Missouri. Columbia. – 1973. – P. 191–199.
198. Shamanin V., Pototskaya I., Shepelev S., Pozherukova V., Salina E.A., Skolotneva S., Hodson D., Hovmøller M. Screening of the genotypic diversity of spring soft wheat for stem rust resistance in Western Siberia // Vavilov J. Genet Breed. – 2019. – Vol. 23. – № 7.
199. Shamanin V., Pototskaya I., Shepelev S., Pozherukova V., Salina E., Skolotneva E., Hodson D., Hovmøller M., Patpour M., Morgounov A. Stem rust in Western Siberia – race composition and effective resistance genes // Vavilov J. Genet. Breed. – 2020. – Vol. 24. № 2. – P. 131–138.
200. Shamanin V., Salina E., Wanyera R., Zelenskiy Y., Olivera P., Morgounov A. Genetic diversity of spring wheat from Kazakhstan and Russia for resistance to stem rust Ug99 // Euphytica. – 2016. – Vol. 212. № 2. – P. 287–296.
201. Shannon C.E., Weaver W. The mathematical theory of communication. Univ. of Illinois Press, Urbana // The mathematical theory of communication. Univ. of Illinois Press, Urbana. – 1949.
202. Sharma A.K., Saharan M.S., Bhardwaj S.C., Prashar M., Chatrath R., Tiwari V., Singh M., Sharma I.N.D.U. Evaluation of wheat (*Triticum aestivum*) germplasm and varieties against stem rust (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) pathotype Ug99 and its variants // Indian Phytopathology. – 2015. – Vol. 68. № 2. – P. 134–138.

203. Sheldon A.L. Equitability indices: dependence on the species count // Ecology. – 1969. – Vol. 50. – №. 3. – P. 466-467.
204. Simmonds N.W., Rajaram S. (ed.). Breeding strategies for resistance to the rusts of wheat. CIMMYT, 1988.
205. Singh N.K., Shepherd K.W., McIntosh R.A. Linkage mapping of genes for resistance to leaf, stem and stripe rusts and ω -secalins on the short arm of rye chromosome 1R // Theoretical and Applied Genetics. – 1990. – Vol. 80. № 5. – P. 609–616.
206. Singh R.P., Hodson D.P., Huerta-Espino J., Jin Y., Bhavani S., Njau P., Herrera-Foessel S., Singh P.K., Singh S., Govindan V. The emergence of Ug99 races of the stem rust fungus is a threat to world wheat production // Annual review of phytopathology. – 2011. – Vol. 49. – P. 465–481.
207. Singh R.P., Hodson D.P., Jin Y., Huerta-Espino J., Kinyua M., Wanyera R., Njau P., Ward R. Current status, likely migration and strategies to mitigate the threat to wheat production from race Ug99 (TTKS) of stem rust pathogen // CAB reviews: perspectives in agriculture, veterinary science, nutrition and natural resources. – 2006. – Vol. 1. – № 54. – P. 1–13.
208. Singh R.P., Hodson D.P., Jin Y., Lagudah E.S., Ayliffe M.A., Bhavani S. Emergence and Spread of New Races of Wheat Stem Rust Fungus: Continued Threat to Food Security and Prospects of Genetic Control // Phytopathology. – 2015. – Vol. 105. – P. 872–884.
209. Singh R.P., Singh P.K., Rutkoski J., Hodson D.P., He X., Jørgensen L.N., Hovmøller M.S., Huerta-Espino J. Disease impact on wheat yield potential and prospects of genetic control. Annual review of phytopathology. – 2016. – Vol. 54. – P. 303–322.
210. Skolotneva E.S., Lekomtseva S.N., Kosman E. The wheat stem rust pathogen in the central region of the Russian Federation // Plant Pathology. – 2013. – Vol. 62. – №. 5. – P. 1003–1010.
211. Skolotneva E.S., Leonova I.N., Bukatich E.Y., Boiko N.I., Piskarev V.V., Salina E.A. Effectiveness of leaf rust resistance genes against *Puccinia triticina* populations in Western Siberia during 2008–2017 // Journal of Plant Diseases and Protection. – 2018. – Vol. 125. – №. 6. – P. 549–555.

212. Skolotneva E.S., Salina E.A. Features of the causative agent of wheat stem rust in the conditions of Western Siberia. In: Protection of grain crops from diseases, pests, weeds: achievements and problems. Bolshiye Vyazemy. – 2016. – P. 67–71.
213. Smith E.L., Schlehuber A.M., Young Jr H.C., Edwards L.H. Registration of Agent Wheat (Reg. No. 471) // Crop Science. – 1968. – Vol. 8. – № 4. – P. 511–512.
214. Solanki S., Ameen G., Borowicz P., Brueggeman R.S. Shedding light on penetration of cereal host stomata by wheat stem rust using improved methodology // Scientific reports. – 2019. – Vol. 9. – № 1. – P. 1–13.
215. Soreng R.J., Peterson P.M., Romaschenko K., Davidse G., Zuloaga F.O., Judziewicz E.J., Filgueiras T.S., Davis J.I., Morrone O. A worldwide phylogenetic classification of the *Poaceae* (*Gramineae*) // Journal of Systematics and Evolution. – 2015. – Vol. 53. – № 2. – P. 117–137.
216. Soresa D.N. Evaluation of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes for resistance against stem rust (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) diseases at seedling and adult stages. African Journal of Agricultural Research. – 2018. – Vol. 13. – № 52. – P. 2904–2910.
217. Sperschneider J., Ying H., Dodds P.N., Gardiner D.M., Upadhyaya N.M., Singh K.B., Manners J.M., Taylor J.M. Diversifying selection in the wheat stem rust fungus acts predominantly on pathogen-associated gene families and reveals candidate effectors //Frontiers in plant science. – 2014. – Vol. 5. – P. 372.
218. Spielmeier W., Sharp P.J., Lagudah E.S. Identification and validation of markers linked to broad-spectrum stem rust resistance gene *Sr2* in wheat (*Triticum aestivum* L.) // Crop science. – 2003. – Vol. 43. – № 1. – P. 333–336.
219. Stakman E.C., Stewart D.M., Loegerin W.Q. Identification of physiologic races of *Puccinia graminis* var. *tritici* // Washington DC, USA: Agricultural Research Service E 617, USDA, 1962.
220. Stakman E.C., Harrar J.G. Principles of plant pathology // Principles of plant pathology. – 1957.
221. Stakman E.C., Harrar J.G. Principles of plant pathology // Soil Science. – 1958. – Vol. 85. – № 3. – P. 174.
222. Stakman E.C., Rodenhiser H.A. Race 15B of wheat stem rust-what it is and what it means // Advances in Agronomy. – Academic Press. – 1959. – Vol. 10. – P. 143–165.

223. Stewart R.B., Robertson W. Fungus spores from prehistoric potsherds // *Mycologia*. – 1968. – Vol. 60. – № 3. – P. 701–704.
224. Stielow J.B., Lévesque C.A., Seifert K.A., Meyer W., Iriny L., Smits D., Renfurm R., Verkley G.J., Groenewald M., Chaduli D., Lomascolo A., Welti S., Lesage-Meessen L., Favel A., Al-Hatmi A.M., Damm U., Yilmaz N., Houbroken J., Lombard L., Quaadvlieg W., Binder M., Vaas L.A., Vu D., Yurkov A., Begerow D., Roehl O., Guerreiro M., Fonseca A., Samerpitak K., van Diepeningen A.D., Dolatabadi S., Moreno L.F., Casaregola S., Mallet S., Jacques N., Roscini L., Egidi E., Bizet C., Garcia-Hermoso D, Martín M.P., Deng S., Groenewald J.Z., Boekhout T., de Beer Z.W., Barnes I, Duong T.A., Wingfield M.J., de Hoog G.S., Crous P.W., Lewis C.T., Hambleton S., Moussa T.A., Al-Zahrani H.S., Almaghrabi O.A., Louis-Seize G, Assabgui R., McCormick W., Omer G., Dukik K., Cardinali G., Eberhardt U., de Vries M., Robert V. One fungus, which genes? Development and assessment of universal primers for potential secondary fungal DNA barcodes // *Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*. – 2015. – Vol. 35. – P. 242.
225. Stoxen S. Population structure of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* in the united states // *Parasitology*. 2012.
226. Struck C. Amino acid uptake in rust fungi // *Frontiers in plant science*. – 2015. – Vol. 6. – P. 40.
227. Szabo L.J., Kolmer J.A. Development of simple sequence repeat markers for the plant pathogenic rust fungus *Puccinia triticina* // *Molecular Ecology Notes*. – 2007. – Vol. 7. – №. 4. – P. 708–710.
228. Toruño T.Y., Stergiopoulos I., Coaker G. Plant-pathogen effectors: cellular probes interfering with plant defenses in spatial and temporal manners // *Annual review of phytopathology*. – 2016. – Vol. 54. – P. 419–441.
229. Ukkelberg H.G. The rate of fall of spores in relation to the epidemiology of black stem rust // *Bulletin of the Torrey Botanical Club*. – 1933. – P. 211–228.
230. Upadhyaya N.M. Garnica D.P., Karaoglu H., Sperschneider J., Nemri A., Xu B., Dodds P.N. Comparative genomics of Australian isolates of the wheat stem rust pathogen *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* reveals extensive polymorphism in candidate effector genes // *Frontiers in plant science*. – 2015. – Vol. 5. – P. 759.

231. Urban Z. The taxonomy of some European graminicolous rusts // *Ceska mykologie*. – 1967. – Vol. 21. – №. 1. – P. 12–16.
232. van Schie C.C.N., Takken F.L.W. Susceptibility genes 101: how to be a good host // *Annual review of phytopathology*. – 2014. – Vol. 52. – P. 551–581.
233. Větrovský T., Kolařík M., Žifčáková L., Zelenka T., Baldrian P. The *rpb2* gene represents a viable alternative molecular marker for the analysis of environmental fungal communities // *Molecular Ecology Resources*. – 2016. – Vol. 16. – №. 2. – P. 388–401.
234. Visser B., Meyer M., Park R.F., Gilligan C.A., Burgin L.E., Hort M.C., Hodson D.P., Pretorius Z.A. Microsatellite analysis and urediniospore dispersal simulations support the movement of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* from Southern Africa to Australia // *Phytopathology*. – 2019. – Vol. 109. – №. 1. – P. 133–144.
235. Voegelé R.T., Mendgen K.W. Nutrient uptake in rust fungi: how sweet is parasitic life? // *Euphytica*. – 2011. – Vol. 179. – №. 1. – P. 41–55.
236. Wang C.I., Guncar G., Forwood J.K., Teh T., Catanzariti A.M., Lawrence G.J., Loughlin F.E., Mackay J.P., Schirra H.J., Anderson P.A., Ellis J.G., Dodds P.N., Kobe B. Crystal structures of flax rust avirulence proteins AvrL567-A and-D reveal details of the structural basis for flax disease resistance specificity // *The Plant Cell*. – 2007. – Vol. 19. – №. 9. – P. 2898–2912.
237. Waterhouse W.L. Australian rust studies. VIII. *Puccinia graminis lolii*, and undescribed rust of *Lolium* spp. and other grasses in Australia // *Proceedings of the Linnean Society of New South Wales*. – 1951. – Vol. 76. – P. 57–64.
238. Watson I.A., Luig N.H. Progressive increase in virulence in *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* // *Phytopathology*. – 1968. – Vol. 58. – №1. – P. 70.
239. Watson I.A., Luig N.H. Somatic hybridization in *Puccinia graminis* var. *tritici* // *Proc. Linn. Soc. NSW*. – 1958. – Vol. 83. – P. 190–195.
240. Watson I.A., Luig N.H. The classification of *Puccinia graminis* var. *tritici* in relation to breeding resistant varieties. – 1963. – №. REP-1140. CIMMYT.
241. Weinhold A.R. Rate of Fall of Urediospores of *Puccinia Graminis Tritici* Erikss. and Henn. as Affected by Humidity and Temperature // *Botany and Plant Pathology Department Colorado [and] Agricultural and Mechanical College Fort Collins, Colorado*, 1955.

242. Wellings C.R. Host: pathogen studies of wheat stripe rust in Australia. – 1986.
243. Wu S., Pumphrey M., Bai G. Molecular mapping of stem-rust-resistance gene *Sr40* in wheat. *Crop Science*. – 2009. – Vol. 49. – № 5. – P. 1681–1686.
244. Yahr R., Schoch C.L., Dentinger B.T.M. Scaling up discovery of hidden diversity in fungi: impacts of barcoding approaches // *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. – 2016. – Vol. 371. – №. 1702. – P. 20150336.
245. Yirgou D., Caldwell R.M. Stomatal penetration of wheat seedlings by stem and leaf rust: effect of light and carbon dioxide // *Science*. – 1963. – Vol. 141. – №. 3577. – P. 272–273.
246. Zhong S., Leng Y., Friesen T.L., Faris J.D., Szabo, L.J. Development and characterization of expressed sequence tag-derived microsatellite markers for the wheat stem rust fungus *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* // *Phytopathology*. – 2009. – Vol. 99. – № 3. – P. 282–289.
247. Zhou Y., He Z.H., Liu J.J., Liu L. Distribution of 1BL/1RS translocation in Chinese winter wheat and its effect on noodle quality. *Proc. of 10th Intern. Wheat Genet. Symp. Paestum, 2003*. – Vol. 3. – P. 1419–1421.

Приложения

Приложение 1. Сорта и гибриды яровой мягкой пшеницы, высеваемые на территории Новосибирской, Омской областей и Алтайского края

Субъект федерации	Сорт (гибрид)	% к общей площади
Алтайский край	Алтайская жница	13,8
Алтайский край	Алтайская 75	9,8
Алтайский край	Степная волна	8,7
Алтайский край	Омская 36	5,9
Алтайский край	Тобольская степная	5,4
Алтайский край	Тобольская	4,3
Алтайский край	Алтайская 70	3,8
Алтайский край	Новосибирская 31	3,5
Алтайский край	Алтайская 325	3,3
Алтайский край	Баганская 95	3,1
Алтайский край	Степная нива	2,9
Алтайский край	Алтайская 530	2,8
Алтайский край	Гранни	2,2
Алтайский край	Ирень	2,1
Красноярский край	Новосибирская 31	40,2
Красноярский край	Новосибирская 29	16,1
Красноярский край	Новосибирская 15	15,8
Красноярский край	Алтайская 70	7,4
Красноярский край	Новосибирская 18	5,1
Красноярский край	Ирень	4,7
Красноярский край	Алтайская 75	4,1
		100,0
Новосибирская область	Новосибирская 31	26,8
Новосибирская область	Омская 36	11,9
Новосибирская область	Тризо	5,1
Новосибирская область	Тобольская	4,8
Новосибирская область	Новосибирская 29	4,5
Новосибирская область	Ирень	4,0
Новосибирская область	Омская 38	3,8
Новосибирская область	Новосибирская 18	3,4
Новосибирская область	Ликамеро	3,3
Новосибирская область	Новосибирская 44	2,9
Новосибирская область	Омская 28	2,8
Новосибирская область	Уралосибирская	2,8
Новосибирская область	Обская 2	2,6
Новосибирская область	Икар	2,4

Субъект федерации	Сорт (гибрид)	% к общей площади
Новосибирская область	Баганская 95	2,1
Омская область	Серебристая	2,3
Омская область	Омская 35	2,4
Омская область	Катюша	2,6
Омская область	Дуэт	3,0
Омская область	Боевчанка	3,0
Омская область	Новосибирская 31	3,1
Омская область	ОМГАУ 90	3,4
Омская область	Мелодия	4,1
Омская область	Омская 28	4,3
Омская область	Павлоградка	4,7
Омская область	Элемент 22	4,7
Омская область	Памяти Азиева	4,8
Омская область	Сигма	4,9
Омская область	Омская 38	7,3
Омская область	Уралосибирская	11,7
Омская область	Омская 36	13,9

Приложение 2. Монопустульные изоляты *P. graminis* f. sp. *tritici*

Место, год, (количество)	Монопустульный изолят	Раса	Вирулентный к <i>Sr</i> генам	Авирулентный к <i>Sr</i> генам
Внешние и тестерные монопустульные изоляты <i>P. graminis</i> f. sp. <i>tritici</i> (см. глава 2, подглава 2.1 ; см. глава 3, подглава 3.3 ; подглава 3.6.2)				
Центральный регион Российской Федерации, 2019, (110)	Pgt_CR_19_1 – Pgt_CR_19_110	*	*	*
Красноярский край, Восточно-Сибирский регион, 2020, (28)	Pgt_ES_20_1 – Pgt_ES_20_28	*	*	*
Состав фенотипов вирулентности западносибирской популяции <i>P. graminis</i> f. sp. <i>tritici</i> , 2017–2018 гг. (см. глава 3, подглава 3.2.1)				
Новосибирская область, Западно- Сибирский регион, 2017, (31)	Pgt_No_17_1	LCCSF	5, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 38, McN	6, 7b, 8a, 9b, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, 36, Tmp
	Pgt_No_17_2	LCHSF	5, 9a, 9b, 9d, 9g, 10, 17, 38, McN	6, 7b, 8a, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, 36, Tmp
	Pgt_No_17_3	LCRSF	5, 9a, 9b, 9d, 9g, 10, 17, 36, 38, McN	6, 7b, 8a, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, Tmp
	Pgt_No_17_4	LCRSF	5, 9a, 9b, 9d, 9g, 10, 17, 36, 38, McN	6, 7b, 8a, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, Tmp
	Pgt_No_17_5	LHRSF	5, 6, 9a, 9b, 9d, 9g, 10, 17, 36, 38, McN	7b, 8a, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, Tmp
	Pgt_No_17_6	LHRSF	5, 6, 9a, 9b, 9d, 9g, 10, 17, 36, 38, McN	7b, 8a, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, Tmp
	Pgt_No_17_7	QCHSF	5, 9a, 9b, 9d, 9g, 10, 17, 21, 38, McN	6, 7b, 8a, 9e, 11, 24, 30, 31, 36, Tmp
	Pgt_No_17_8	QCHSF	5, 9a, 9b, 9d, 9g, 10, 17, 21, 38, McN	6, 7b, 8a, 9e, 11, 24, 30, 31, 36, Tmp
	Pgt_No_17_9	QCHSF	5, 9a, 9b, 9d, 9g, 10, 17, 21, 38, McN	6, 7b, 8a, 9e, 11, 24, 30, 31, 36, Tmp
	Pgt_No_17_10	QCRSF	5, 9a, 9b, 9d, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, McN	6, 7b, 8a, 9e, 11, 24, 30, 31, Tmp
	Pgt_No_17_11	QCRSF	5, 9a, 9b, 9d, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, McN	6, 7b, 8a, 9e, 11, 24, 30, 31, Tmp
	Pgt_No_17_12	QCRSF	5, 9a, 9b, 9d, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, McN	6, 7b, 8a, 9e, 11, 24, 30, 31, Tmp
	Pgt_No_17_13	QCRSF	5, 9a, 9b, 9d, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, McN	6, 7b, 8a, 9e, 11, 24, 30, 31, Tmp
	Pgt_No_17_14	QCRSF	5, 9a, 9b, 9d, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, McN	6, 7b, 8a, 9e, 11, 24, 30, 31, Tmp
	Pgt_No_17_15	QCRSF	5, 9a, 9b, 9d, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, McN	6, 7b, 8a, 9e, 11, 24, 30, 31, Tmp
	Pgt_No_17_16	LKCSF	5, 6, 8a, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 38, McN	7b, 9b, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, 36, Tmp
	Pgt_No_17_17	LKCSF	5, 6, 8a, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 38, McN	7b, 9b, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, 36, Tmp
	Pgt_No_17_18	MCMSF	5, 7b, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 36, 38, McN	6, 8a, 9b, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, Tmp
	Pgt_No_17_19	NFMSF	5, 8a, 9a, 9d, 9e, 9g, 10, 17, 36, 38, McN	6, 7b, 9b, 11, 21, 24, 30, 31, Tmp
	Pgt_No_17_20	NFMSF	5, 8a, 9a, 9d, 9e, 9g, 10, 17, 36, 38, McN	6, 7b, 9b, 11, 21, 24, 30, 31, Tmp
	Pgt_No_17_21	QHHSF	5, 6, 9a, 9b, 9d, 9g, 10, 17, 21, 38, McN	7b, 8a, 9e, 11, 24, 30, 31, 36, Tmp
	Pgt_No_17_22	RFPTF	5, 7b, 8a, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 21, 30, 36, 38, McN, Tmp	6, 9b, 9e, 11, 24, 31
	Pgt_No_17_23	RFPTF	5, 7b, 8a, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 21, 30, 36, 38, McN, Tmp	6, 9b, 9e, 11, 24, 31
	Pgt_No_17_24	TKRPF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9e, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, McN, Tmp	9d, 11, 24, 30, 31
	Pgt_No_17_25	TKRPF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9e, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, McN, Tmp	9d, 11, 24, 30, 31
	Pgt_No_17_26	TKRPF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9e, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, McN, Tmp	9d, 11, 24, 30, 31
	Pgt_No_17_27	TKRPF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9e, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, McN, Tmp	9d, 11, 24, 30, 31
	Pgt_No_17_28	TKRPF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9e, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, McN, Tmp	9d, 11, 24, 30, 31
	Pgt_No_17_29	TKRPF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9e, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, McN, Tmp	9d, 11, 24, 30, 31

Место, год, (количество)	Монопустьльный изолят	Раса	Вирулентный к <i>Sr</i> генам	Авирулентный к <i>Sr</i> генам
	Pgt_No_17_30	TKRPF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9e, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	9d, 11, 24, 30, 31
	Pgt_No_17_31	TKRPF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9e, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	9d, 11, 24, 30, 31
Омская область, Западно-Сибирский регион, 2017, (18)	Pgt_Om_17_1	RRGTF	5, 6, 7b, 9a, 9b, 9d, 9g, 10, 11, 21, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	8a, 9e, 17, 24, 30, 31, 36
	Pgt_Om_17_2	TKRPF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9e, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	9d, 11, 24, 30, 31
	Pgt_Om_17_3	TKRPF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9e, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	9d, 11, 24, 30, 31
	Pgt_Om_17_4	TKRPF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9e, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	9d, 11, 24, 30, 31
	Pgt_Om_17_5	TKRPF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9e, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	9d, 11, 24, 30, 31
	Pgt_Om_17_6	TKRPF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9e, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	9d, 11, 24, 30, 31
	Pgt_Om_17_7	TKRPF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9e, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	9d, 11, 24, 30, 31
	Pgt_Om_17_8	TKRPF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9e, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	9d, 11, 24, 30, 31
	Pgt_Om_17_9	RKRSP	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9d, 9g, 10, 17, 21, 24, 36, 38, <i>McN</i>	9e, 11, 30, 31, <i>Tmp</i>
	Pgt_Om_17_10	RFRSF	5, 7b, 8a, 9a, 9b, 9d, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, <i>McN</i>	6, 9e, 11, 24, 30, 31, <i>Tmp</i>
	Pgt_Om_17_11	THRTP	5, 6, 7b, 9a, 9b, 9d, 9e, 9g, 10, 17, 21, 24, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	8a, 11, 30, 31
	Pgt_Om_17_12	THRTP	5, 6, 7b, 9a, 9b, 9d, 9e, 9g, 10, 17, 21, 24, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	8a, 11, 30, 31
	Pgt_Om_17_13	QHHSF	5, 6, 9a, 9b, 9d, 9g, 10, 17, 21, 38, <i>McN</i>	7b, 8a, 9e, 11, 24, 30, 31, 36, <i>Tmp</i>
	Pgt_Om_17_14	RCRTF	5, 7b, 9a, 9b, 9d, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	6, 8a, 9e, 11, 24, 30, 31
	Pgt_Om_17_15	SHHSF	5, 6, 9a, 9b, 9d, 9e, 9g, 10, 17, 21, 38, <i>McN</i>	7b, 8a, 11, 24, 30, 31, 36, <i>Tmp</i>
	Pgt_Om_17_16	RCRTP	5, 7b, 9a, 9b, 9d, 9g, 10, 17, 21, 24, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	6, 8a, 9e, 11, 30, 31
	Pgt_Om_17_17	QFRCF	5, 8a, 9a, 9b, 9d, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, <i>McN</i>	6, 7b, 9e, 11, 24, 30, 31, <i>Tmp</i>
	Pgt_Om_17_18	RFRTF	5, 7b, 8a, 9a, 9b, 9d, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	6, 9e, 11, 24, 30, 31
Алтайский край, Западно-Сибирский регион, 2017, (20)	Pgt_Al_17_1	PKCSF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9d, 9e, 9g, 10, 17, 38, <i>McN</i>	9b, 11, 21, 24, 30, 31, 36, <i>Tmp</i>
	Pgt_Al_17_2	PKCSF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9d, 9e, 9g, 10, 17, 38, <i>McN</i>	9b, 11, 21, 24, 30, 31, 36, <i>Tmp</i>
	Pgt_Al_17_3	PKCSF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9d, 9e, 9g, 10, 17, 38, <i>McN</i>	9b, 11, 21, 24, 30, 31, 36, <i>Tmp</i>
	Pgt_Al_17_4	PKCSF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9d, 9e, 9g, 10, 17, 38, <i>McN</i>	9b, 11, 21, 24, 30, 31, 36, <i>Tmp</i>
	Pgt_Al_17_5	PKCSF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9d, 9e, 9g, 10, 17, 38, <i>McN</i>	9b, 11, 21, 24, 30, 31, 36, <i>Tmp</i>
	Pgt_Al_17_6	LKCSF	5, 6, 8a, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 38, <i>McN</i>	7b, 9b, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, 36, <i>Tmp</i>
	Pgt_Al_17_7	LKCSF	5, 6, 8a, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 38, <i>McN</i>	7b, 9b, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, 36, <i>Tmp</i>
	Pgt_Al_17_8	LKCSF	5, 6, 8a, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 38, <i>McN</i>	7b, 9b, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, 36, <i>Tmp</i>
	Pgt_Al_17_9	LKMSF	5, 6, 8a, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 36, 38, <i>McN</i>	7b, 9b, 9e, 21, 24, 11, 30, 31, <i>Tmp</i>
	Pgt_Al_17_10	LKMSF	5, 6, 8a, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 36, 38, <i>McN</i>	7b, 9b, 9e, 21, 24, 11, 30, 31, <i>Tmp</i>
	Pgt_Al_17_11	LKMSF	5, 6, 8a, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 36, 38, <i>McN</i>	7b, 9b, 9e, 21, 24, 11, 30, 31, <i>Tmp</i>
	Pgt_Al_17_12	LKMSF	5, 6, 8a, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 36, 38, <i>McN</i>	7b, 9b, 9e, 21, 24, 11, 30, 31, <i>Tmp</i>
	Pgt_Al_17_13	LTMSF	5, 6, 8a, 9a, 9d, 9g, 10, 11, 17, 36, 38, <i>McN</i>	7b, 9b, 9e, 21, 24, 30, 31, <i>Tmp</i>
	Pgt_Al_17_14	NFMSF	5, 8a, 9a, 9d, 9e, 9g, 10, 17, 36, 38, <i>McN</i>	6, 7b, 9b, 11, 21, 24, 30, 31, <i>Tmp</i>
	Pgt_Al_17_15	NFMSF	5, 8a, 9a, 9d, 9e, 9g, 10, 17, 36, 38, <i>McN</i>	6, 7b, 9b, 11, 21, 24, 30, 31, <i>Tmp</i>
	Pgt_Al_17_16	NFMSF	5, 8a, 9a, 9d, 9e, 9g, 10, 17, 36, 38, <i>McN</i>	6, 7b, 9b, 11, 21, 24, 30, 31, <i>Tmp</i>
	Pgt_Al_17_17	NFMSF	5, 8a, 9a, 9d, 9e, 9g, 10, 17, 36, 38, <i>McN</i>	6, 7b, 9b, 11, 21, 24, 30, 31, <i>Tmp</i>
	Pgt_Al_17_18	LHCSF	5, 6, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 38, <i>McN</i>	7b, 8a, 9b, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, 36, <i>Tmp</i>
	Pgt_Al_17_19	LHMSF	5, 6, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 36, 38, <i>McN</i>	7b, 8a, 9b, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, <i>Tmp</i>
	Pgt_Al_17_20	LHMSF	5, 6, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 36, 38, <i>McN</i>	7b, 8a, 9b, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, <i>Tmp</i>

Место, год, (количество)	Монопустьльный изолят	Раса	Вирулентный к <i>Sr</i> генам	Авирулентный к <i>Sr</i> генам
Новосибирская область, Западно- Сибирский регион , 2018, (16)	Pgt_No_18_1	TKRPF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9e, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	9d, 11, 24, 30, 31
	Pgt_No_18_2	TKRPF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9e, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	9d, 11, 24, 30, 31
	Pgt_No_18_3	TKRPF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9e, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	9d, 11, 24, 30, 31
	Pgt_No_18_4	TKRPF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9e, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	9d, 11, 24, 30, 31
	Pgt_No_18_5	TKRPF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9e, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	9d, 11, 24, 30, 31
	Pgt_No_18_6	TKRPF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9e, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	9d, 11, 24, 30, 31
	Pgt_No_18_7	TKRPF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9e, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	9d, 11, 24, 30, 31
	Pgt_No_18_8	MLLTF	5, 7b, 9a, 9b, 10, 11, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	6, 8a, 9b, 9e, 9g, 17, 21, 24, 30, 31
	Pgt_No_18_9	MLLTF	5, 7b, 9a, 9b, 10, 11, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	6, 8a, 9b, 9e, 9g, 17, 21, 24, 30, 31
	Pgt_No_18_10	LKCSF	5, 6, 8a, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 38, <i>McN</i>	7b, 9b, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, 36, <i>Tmp</i>
	Pgt_No_18_11	LKCSF	5, 6, 8a, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 38, <i>McN</i>	7b, 9b, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, 36, <i>Tmp</i>
	Pgt_No_18_12	LKCSF	5, 6, 8a, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 38, <i>McN</i>	7b, 9b, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, 36, <i>Tmp</i>
	Pgt_No_18_13	LKCSF	5, 6, 8a, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 38, <i>McN</i>	7b, 9b, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, 36, <i>Tmp</i>
	Pgt_No_18_14	LKMSF	5, 6, 8a, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 36, 38, <i>McN</i>	7b, 9b, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, <i>Tmp</i>
	Pgt_No_18_15	LKMSF	5, 6, 8a, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 36, 38, <i>McN</i>	7b, 9b, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, <i>Tmp</i>
	Pgt_No_18_16	PKCSF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9d, 9e, 9g, 10, 17, 38, <i>McN</i>	9b, 11, 21, 24, 30, 31, 36, <i>Tmp</i>
Омская область, Западно-Сибирский регион, 2018, (16)	Pgt_Om_18_1	MPLTF	5, 7b, 8a, 9a, 9d, 9g, 10, 11, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	6, 9b, 9e, 17, 21, 24, 30, 31
	Pgt_Om_18_2	MPLTF	5, 7b, 8a, 9a, 9d, 9g, 10, 11, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	6, 9b, 9e, 17, 21, 24, 30, 31
	Pgt_Om_18_3	MTNTF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9d, 9g, 10, 11, 30, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	9b, 9e, 17, 21, 24, 31
	Pgt_Om_18_4	MTLTF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9d, 9g, 10, 11, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	9b, 9e, 17, 21, 24, 30, 31
	Pgt_Om_18_5	TKRPF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9e, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	9d, 11, 24, 30, 31
	Pgt_Om_18_6	TKRPF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9e, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	9d, 11, 24, 30, 31
	Pgt_Om_18_7	TKRPF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9e, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	9d, 11, 24, 30, 31
	Pgt_Om_18_8	TKRPF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9e, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	9d, 11, 24, 30, 31
	Pgt_Om_18_9	TKRPF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9e, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	9d, 11, 24, 30, 31
	Pgt_Om_18_10	TKRPF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9e, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	9d, 11, 24, 30, 31
	Pgt_Om_18_11	TKRPF	5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9e, 9g, 10, 17, 21, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	9d, 11, 24, 30, 31
	Pgt_Om_18_12	MLNTF	5, 7b, 9a, 9d, 10, 11, 30, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	6, 8a, 9b, 9e, 9g, 17, 21, 24, 31
	Pgt_Om_18_13	MLNTF	5, 7b, 9a, 9d, 10, 11, 30, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	6, 8a, 9b, 9e, 9g, 17, 21, 24, 31
	Pgt_Om_18_14	MQNTF	5, 6, 7b, 9a, 9d, 10, 11, 24, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	8a, 9b, 9e, 9g, 17, 21, 24, 31
	Pgt_Om_18_15	MLLTF	5, 7b, 9a, 9d, 10, 11, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	6, 8a, 9b, 9e, 9g, 17, 21, 24, 30, 31
	Pgt_Om_18_16	MQLTF	5, 6, 7b, 9a, 9d, 10, 11, 36, 38, <i>McN</i> , <i>Tmp</i>	8a, 9b, 9e, 9g, 17, 21, 24, 30, 31
Алтайский край, Западно-Сибирский регион, 2018, (14)	Pgt_Al_18_1	LKMSF	5, 6, 8a, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 36, 38, <i>McN</i>	7b, 9b, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, <i>Tmp</i>
	Pgt_Al_18_2	LKMSF	5, 6, 8a, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 36, 38, <i>McN</i>	7b, 9b, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, <i>Tmp</i>
	Pgt_Al_18_3	LKMSF	5, 6, 8a, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 36, 38, <i>McN</i>	7b, 9b, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, <i>Tmp</i>
	Pgt_Al_18_4	LKMSF	5, 6, 8a, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 36, 38, <i>McN</i>	7b, 9b, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, <i>Tmp</i>
	Pgt_Al_18_5	LKMSF	5, 6, 8a, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 36, 38, <i>McN</i>	7b, 9b, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, <i>Tmp</i>
	Pgt_Al_18_6	LKCSF	5, 6, 8a, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 38, <i>McN</i>	7b, 9b, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, 36, <i>Tmp</i>
	Pgt_Al_18_7	LKCSF	5, 6, 8a, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 38, <i>McN</i>	7b, 9b, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, 36, <i>Tmp</i>
	Pgt_Al_18_8	LKCSF	5, 6, 8a, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 38, <i>McN</i>	7b, 9b, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, 36, <i>Tmp</i>

Место, год, (количество)	Монопустульный изолят	Раса	Вирулентный к <i>Sr</i> генам	Авирулентный к <i>Sr</i> генам
	Pgt_Al_18_9 Pgt_Al_18_10 Pgt_Al_18_11 Pgt_Al_18_12 Pgt_Al_18_13 Pgt_Al_18_14	LKCSF PKCSF PKCSF PKCSF LKRSF LKRSF	5, 6, 8a, 9a, 9d, 9g, 10, 17, 38, <i>McN</i> 5, 6, 7b, 8a, 9a, 9d, 9e, 9g, 10, 17, 38, <i>McN</i> 5, 6, 7b, 8a, 9a, 9d, 9e, 9g, 10, 17, 38, <i>McN</i> 5, 6, 7b, 8a, 9a, 9d, 9e, 9g, 10, 17, 38, <i>McN</i> 5, 6, 8a, 9a, 9b, 9d, 9g, 10, 17, 31, 38, <i>McN</i> 5, 6, 8a, 9a, 9b, 9d, 9g, 10, 17, 31, 38, <i>McN</i>	7b, 9b, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, 36, <i>Tmp</i> 9b, 11, 21, 24, 30, 31, 36, <i>Tmp</i> 9b, 11, 21, 24, 30, 31, 36, <i>Tmp</i> 9b, 11, 21, 24, 30, 31, 36, <i>Tmp</i> 7b, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, <i>Tmp</i> 7b, 9e, 11, 21, 24, 30, 31, <i>Tmp</i>
SSR генотипирование коллекции монопустульных изолятов <i>P. graminis</i> f. sp. <i>tritici</i> (см. глава 3, подглава 3.3)				
Новосибирская область, Западно-Сибирский регион, 2019, (56)	Pgt_No_19_1 – Pgt_No_19_56	*	*	*
Омская область, Западно-Сибирский регион, 2019, (55)	Pgt_Om_19_1 – Pgt_Om_19_55 Pgt_Om_19_7	* MTMTC	* 5, 6, 7b, 8a, 11, 9g, 36, 17, 9a, 9d, 10, <i>Tmp</i> , <i>McN</i>	* 21, 9e, 9b, 30, 24, 31, 38
Алтайский край, Западно-Сибирский регион, 2019, (12)	Pgt_Al_19_1 – Pgt_Al_19_12	*	*	*
Анализ частоты авирулентных и вирулентных клонов монопустульных изолятов <i>P. graminis</i> f. sp. <i>tritici</i> Западной Сибири к гену <i>Sr38</i> (см. глава 3, подглава 3.6.2)				
Новосибирская область, Западно-Сибирский регион, 2019, (20)**	Pgt_No_20_1 – Pgt_No_20_20	*	*	*
Омская область, Западно-Сибирский регион, 2020, (33)	Pgt_Om_20_1 – Pgt_Om_20_33	*	*	*
Алтайский край, Западно-Сибирский регион, 2019, (9)***	Pgt_Al_19_13 – Pgt_Al_19_21	*	*	*

Примечание: * — информация по данным образцам предоставляется по личному запросу; ** — дополнительно к данной группе были привлечены 37 монопустульных изолятов 2019 года из Новосибирской области (Pgt_No_19_10 – Pgt_No_19_29); *** — дополнительно к данной группе были привлечены 12 монопустульных изолятов 2019 года из Алтайского края.

Приложение 3. Оценка устойчивости к возбудителю стеблевой ржавчины коллекции селекционных линий и сортов яровой мягкой пшеницы ФГБОУ ВО Омский ГАУ (Омск)

#	Сорта/линии	Родословная	Поражённость в полевых условиях (2018)	Поражённость в полевых условиях (2019)	Тип реакции в фазе проростков
1	Памяти Азиева		90S	100S	3 / 3
2	Столыпинская 2	GLE/3/KA/NAC//TRCH/4/Омская-37	20MS	20MS	3- / 2+
3	Нива 55	Лютесценс 307-97-23/3/EMB16/CBRD//CBRD/4/Алтайская-530	5MR	5MR	1 / 1
4	Лютесценс 30-18	Лютесценс 307-97-23/11/CROC_1/AE.SQUARROSA (213)//PGO/10/ATTLA*2/9/KT/BAGE//FN/U/3/BZA/4/TRM/5/ALDAN/6/SERI/7/VEE#10/8/OPATA/12/27.90.98.3	R	40MS	; / 1
5	Лютесценс 70-18	Лютесценс 1519 X Лютесценс 21-12	5MR	30MS	2 / 2
6	Лютесценс 93-18	КП №21 GLE/3/KA/NAC//TRCH/4/OMSKAYA 37 x КП №76 Казахстанская-25/2*ATTLA/3/T.DICOCCON PI94625/AE.SQUARROSA(372)//3* PASTOP/4/Омская 37	5MR	30MS	2 / 2
7	Эритроспермум 37-18	JENNA	R	5MR	0 / 0
8	Эритроспермум 39-18	FREYR	R	5MR	1 / 1
9	Эритроспермум 81-19	NORDEN	10MR	10MR	; / ;
10	Эритроспермум 87-19	KNUDSON	5MR	5MR	1 / 1
11	Эритроспермум 83-19	PREVAIL	5MR	5MR	1 / 1
12	Эритроспермум 40-18	SADIN	R	R	1 / 1
13	Эритроспермум 36-18	ALPINE	R	5MR	1 / 1
14	Лютесценс 38-19	Столыпинская X Лютесценс 18-12	30MR	30MR	1+ / 1
15	Эритроспермум 96-19	Алтайская 530*2/3/EMB16/CBRD//CBRD	50MS	50MS	1 / 1
16	Лютесценс 48-19	Лютесценс 30-94*2/3/T.DICOCCON PI94625/AE.SQUARROSA (372)//3*PASTOR	5MS	30MS	1 / 1
17	Лютесценс 44-19	GLE/3/KA/NAC//TRCH/4/Омская 37	40MS	40MS	3 / 3
18	Лютесценс 12-19	SIM BIRTSIT/5602H R	20MR	20MR	2+ / 3-
19	Лютесценс 9-18	Лютесценс 210.99.10/3/SRN/AE.SQUARROSA (358)//MILAN/SHA7/4/Челяба юбилейная	R	10MR	1 / 1
20	Лютесценс 59-18	Лютесценс 444 X Лютесценс 45-95	R	10MR	; / 1
21	Лютесценс 95-18	КП №29 Алтайская 530*2/7/TOB/ERA//TOB/CNO67/3/PLO/4/VEE#5/5/ KAUZ/6/FPET2 x Лютесценс 241-00-4	R	5MR	1 / 1
22	Лютесценс 58-18	Алтайская 530/3/SRN/AE.SQUARROSA (358)//MILAN/SHA7/4/Омская 37	R	15MR	1 / 1
23	Эритроспермум 85-18	КП №99 Эритроспермум 23902 X Лютесценс 85-08	5MR	20MS	1 / 1
24	Лютесценс 7-18	Алтайская 530*2//TAM200/TURACO	5MR	50S	2 / 2
25	Лютесценс 56-18	Лютесценс. 307-97-23/11/CROC_1/AE.SQUARROSA (213)//PGO/10/ATTLA*2/9/KT/BAGE//FN/U/3/BZA/4/TRM/5/ALDAN/6/SERI/7/VEE#10/8/OPATA/12/27.90.98.3	R	20MS	1 / 1
26	Эритроспермум 44-18	GVK 1369.2//JNRB.5/PIFED	R	MR	0 / 0
27	Лютесценс 22-18	27.90.98.3/CHYAK1//Омская 36	R	10MR	2 / 2
28	Лютесценс 46-19	Лютесценс. 30-94*2/3/T.DICOCCON PI94625/AE.SQUARROSA (372)//3*PASTOR	30MS	30MS	1 / 1
29	Эритроспермум 28-19	Эритроспермум 35 x Эритроспермум 85-08	50MR	50MR	1 / 1
30	Лютесценс 18-19	КП № 29 Алтайская 530* 2/7/TOB/ERA//TOB/CNO67/3/PLO/4/VEE#5/5/ KAUZ/6/FPET2 x Ekada 113	10MR	10MR	0 / 0
31	Элемент 22		5MR	10MR	1 / 1

#	Сорта/линии	Родословная	Поражённость в полевых условиях (2018)	Поражённость в полевых условиях (2019)	Тип реакции в фазе проростков
32	ОмГАУ 100		5MR	10MR	1 / 1
33	Силантий	Лютесценс 30-94*2/3/T.DICOCCON PI94625/AE.SQUARROSA (372)//3*PASTOR	10MR	10MR	1 / 1
34	Лютесценс 12-18	MN6616M/3/NL456/VEE#5//DUCULA/4/Карагиндинская 70	R	20MR	2 / 2
35	Лютесценс 62-19	Aestivum 887	50MS	50MS	1 / 1
36	Эритроспермум 22-19	Тулайковская 5/Памукова 97/3/ATTILA*2/PBW65//TNMU	40MR	40MR	1 / 1
37	Лютесценс 24-19	EKADA66/JENNA/4/BABAX/LR42//BABAX/3/VORB	20MR	20MR	1 / 1
38	Лютесценс 70-19	Лютесценс 210.99.10/3/KA/NAC//TRCH/4/Алтайская 530	40MS	40MS	0 / 0
39	Лютесценс 21-19	МК 746 х Эритроспермум 922 х Fiton 204	40MR	40MR	2 / 2
40	Эритроспермум 53-15	Дуэт х LUT. 70/2*PASTOR/3/T.DICOCCON PI94625/AE.SQUARROSA (372)//3*PASTOR/4/Лютесценс 210.99.10	5MR	15MR	1 / 1
41	Лютесценс 34-17	Лютесценс 210.99.10/3/SRN/AE.SQUARROSA (358)//MILAN/SHA7/4/Челяба юбилейная	5MR	10MR	1 / 1
42	Эритроспермум 28-18	Алтайская 530*2/3/EMB16/CBRD//CBRD	R	5MR	1 / 1
43	Лютесценс 90-18	КП №21 GLE/3/KA/NAC//TRCH/4/Омская 37 х КП №76 Казахская-25/2*ATTILA/3/T.DICOCCON PI94625/AE.SQUARROSA(372)//3* PASTOR/4/Омская 37	R	15MR	3- / 2+
44	Эритроспермум 4-16	SONATA*2//TAM200/TURACO	10MR	5MR	1 / 1
45	Лютесценс 34-16	Омская 36/BAVIS//TERTSIYA	30MS	10MS	2+ / 3-
46	Лютесценс 63-16	Удача*2/4/YANG87-142//SHA4/CHIL/3/TNMU	10MS	5MS	1 / 1
47	Лютесценс 123-13	BARRIE//JNRB.5/PIFED/3/FORA	10MR	25MR	1 / 1
48	Лютесценс 126-15	Лютесценс 210.99.10/3/KA/NAC//TRCH/4/Алтайская 530	5MR	15MR	; / 0
49	Лютесценс 76-17	Омская 37/3/KA/NAC//TRCH/4/Лютесценс 210.99.10	80S	5MS	1 / 1
50	Лютесценс 81-17	Эритроспермум55-94-01-20/5/PYN/BAU/3/MON/IMU//ALD/PVN/4/VEE#5/SARA//DUCULA/6/FITON 42	60S	10MS	3 / 3
51	Лютесценс 89-18	КП №21 GLE/3/KA/NAC//TRCH/4/Омская 37 Х Лютесценс 241-00-4	R	10MR	2 / 2
52	Эритроспермум 40-18	SADIN	R	R	1 / 1
53	Эритроспермум 36-18	ALPINE	R	5MR	2 / 2
54	Лютесценс 35-18	L656	R	10MR	1 / 1
55	Эритроспермум 96-15	Алтайская 530*2/3/WHEAR/VIVITSI//WHEAR	20MR	10MR	1 / 1
56	Лютесценс 89-15	Алтайская 530*2//TAM200/TURACO	10MS	10MS	2 / 2
57	Лютесценс 66-16	27.90.98.3/3/KA/NAC//TRCH/4/Алтайская 530	10MS	25MR	2+ / 3-
58	Эритроспермум 5-17	Степная-1/CHYAK1//TERTSIYA	10MR	10MR	2- / 2
59	К-81	К-81	*	5MS	1 / 1
60	К-1593	К-1593	*	20MS	2+ / 3-
61	К-11750	К-11750	*	30MS	; / ;
62	К-17983	К-17983	*	20MS	; / ;
63	К-18617	К-18617	*	20MS	; / ;
64	К-21582	К-21582	*	10MS	1 / 1
65	К-23647	К-23647	*	10MS	; / ;
66	К-23652	К-23652	*	10MS	; / ;
67	К-23653	К-23653	*	10MS	1 / 1
68	К-34583	К-34583	*	5MS	0 / 0
69	К-35890	К-35890	*	5MS	2 / 2
70	К-40170	К-40170	*	10MS	; / ;

#	Сорта/линии	Родословная	Поражённость в полевых условиях (2018)	Поражённость в полевых условиях (2019)	Тип реакции в фазе проростков
71	3173	(2-2) BC1F4 purple (Element x i:S29 PF)	*	10MS	1 / 1
72	3202	(2-3) BC1F4 purple (Element x i:S29 PF)	*	10MS	0 / 0
73	3238	(2-5) BC1F4 purple (Element x i:S29 PF)	*	10MS	; / 1
74	3245	(3)BC1F4 blue (s:S29_4Ag (Ba)/4D)x Element 22)	*	10MS	2 / 2
75	3297	(3-1)BC1F4 blue (s:S29_4Ag (Ba)/4D)x Element 22)	*	10MS	2 / 2
76	3365	(4-2)BC1F4 blue (s:S29_4Ag (Ba)/4D)x Element 22)	*	10MS	1 / 1
77	Эритроспермум 79/07	Эритроспермум 79/07	*	R	1 / 1
78	Лютесценс ШТ-335	Лютесценс ШТ-335	*	20MR	2 / 2
79	KS 115/09-1	KS 115/09-1	*	20MR	2 / 2
80	KS 161/08-2p	KS 161/08-2p	*	20MR	1 / 1
81	KS 111/09-2	KS 111/09-2	*	20MR	1 / 1
82	Линия 1616ae14	Линия 1616ae14	*	20MR	1 / 1
83	Линия 1617ae9	Линия 1617ae9	*	30MR	1 / 1
84	Лютесценс 417/10-5	Лютесценс 417/10-5	*	20MR	1 / 1
85	Л170 / 06-4	Л170 / 06-4	*	20MR	1 / 1
86	Л14 / 10-14	Л14 / 10-14	*	10MR	1 / 1
87	Линия 375	Линия 375	*	10MR	; / 1
88	Челяба 80	Челяба 80	*	30MR	2 / 2-
89	9-31	UKR-OD 1530.94/AE.SQUARROSA(1027)/Памяти Азиева	5MS	20MR	2+ / 2
90	8-26	AISBERG/AE.SQUARROSA(369)/ОмГАУ 90	10MR	20MR	2 / 2
91	6-19	PANDUR/AE.SQUARROSA(223)/ОмГАУ 90	*	*	1 / 1
92	2-10	UKR-OD 1530.94/AE.SQUARROSA(392)/ОмГАУ 90	5 MS	20MR	2 / 2

Примечание: R, устойчивые; MR, умеренно устойчивые; MS, умеренно восприимчивые; S, восприимчивые; *, данные отсутствуют

**Приложение 4. Список сортов и линий яровой мягкой пшеницы ИЦиГ СО РАН
(Новосибирская область)**

№	Сорт	№	Сорт
1	Куйбышевская 2	67	Икар
2	Лютесценс 840	68	Скэнт 1
3	Тулайковская белозерная	69	Ильинская
4	Тулайковская степная	70	Туринская
5	Тулайковская золотистая	71	Сурента 1
6	Тулайковская 1	72	Сурента 4
7	Тулайковская 10	73	Сурента 5
8	Кинельская 40	74	Сурента 6
9	Кинельская 60	75	Сурента 7
10	Волгоуральская	76	Диас 2
11	Лютесценс 80	77	Катюша
12	Лютесценс 85	78	Тарская 6
13	Лютесценс 148	79	Соната
14	Алтайский простор	80	Страда Сибири
15	Алтайская 92	81	Отрада Сибири
16	Алтайская 99	82	Терция
17	Алтайская 100	83	Прииртышская 86
18	Алтайская 325	84	Росинка 2
19	Алтайская 530	85	Омская 20
20	Эритроспермум 72	86	Омская 23
21	Сибирская 12	87	Омская 24
22	Новосибирская 15	88	Омская 26
23	Новосибирская 20	89	Омская 28
24	Новосибирская 22	90	Омская 29
25	Новосибирская 29	91	Омская 31
26	Новосибирская 67	92	Омская 32
27	Новосибирская 81	93	Омская 33
28	Новосибирская 89	94	Омская 34
29	Новосибирская 91	95	Омская 36
30	Лютесценс 25	96	Саратовская 29
31	Лютесценс 101	97	Лютесценс 62
32	Обская 14	98	Янецкис Пробат
33	Кантегирская 89	99	ИЛ ЯП
34	Александрина	100	Обская 2
35	Удача	101	Воевода
36	Полюшко	102	Белорусская 928
37	Баганская 93	103	Екатерина
38	Сирена	104	Жигулевкая
39	Краса 2	105	Изумрудная
40	Туба	106	Казахстанская 10
41	Красноярская 90	107	Кинельская нива
42	Веснянка 8	108	Курьер
43	Альбидум 73	109	Лютесценс 503
44	Рыбинская 127	110	Маргарита
45	Казачка	111	Новосибирская 14

№	Сорт	№	Сорт
46	Ангарида	112	Новосибирская 41
47	Мана 2	113	Новосибирская 18
48	Тулеевская	114	Тулайковская 105
49	Изида	115	Тулайковская 110
50	Мария	116	Тамбовчанка
51	АН-34	117	Фаворит
52	Мариинка	118	Юго-Восточная-4
53	Салимовка	119	Biggar
54	Кийская	120	Cadillac
55	Ностальгия	121	AC Drumonga
56	Алешина	122	Glenlea
57	Дарница	123	Gelenavon
58	Серебрина	124	Hoffman
59	Речка	125	Скала
60	Латона	126	Иртышанка 10
61	Провинция	127	Целинная 20
62	Бэль	128	Белорусская 80
63	Устя	129	Рассвет
64	Чернява 13	130	Фестивальная
65	Златозара	131	Pitic
66	Тюменская 99		

Sr6A#2	TNAC1752_TaqI		0
Sr57/Lr34/Yr18/ Pm38	csLV34		0
Sr45	cssu45		0
Sr44	Xbe404728		0
Sr39/Lr35	BE500705		0
Sr38/Lr37/Yr17	Ventur+Lr2		0
Sr36	STM773-2		0
Sr35	NL9F5+NL9R6		0
Sr31/Lr26/Yr9	PCEN-2		0
Sr26	BE518379		0
	Sr26#43		0
Sr25/Lr19	Xwmc221		0
Sr24/Lr24	Sr24#12		0
Sr23/Lr16	XTaLr16_RGA266585		0
Sr22	CFA2019		0
Sr15/Lr20/Pm1	Xsis638		0
Sr2	Sr2_ges3 3p	HEX- аллель	0
		FAM- аллель	1
	Xgwm533		0
Гены устойчивости	ДНК-маркеры	Сорта/линии	#
		Памяти Азиева (st)	1
		Столыпинская 2	2
		Нива 55	3
		Лютесценс 30-18	4
		Лютесценс 70-18	5
		Лютесценс 93-18	6
		Эритросперм ум 37-18	7
		Эритросперм ум 39-18	8
		Эритросперм ум 81-19	9
		Эритросперм ум 87-19	10
		Эритросперм ум 83-19	11
		Эритросперм ум 40-18	12
		Эритросперм ум 36-18	13
		Лютесценс 38-19	14
		Эритросперм ум 96-19	15
		Лютесценс 48-19	16
		Лютесценс 44-19	17
		Лютесценс 12-19	18
		Лютесценс 9- 18	19
		Лютесценс 59-18	20
		Лютесценс 95-18	21
		Лютесценс 58-18	22
		Эритросперм ум 85-18	23
		Лютесценс 7- 18	24
		Лютесценс 56-18	25

Sr6A#2	TNAC1752_1aq1																			
Sr57/Lr34/Yr18/ Pm38	cslYr34																			
Sr45	cssH45																			
Sr44	XDe404728																			
Sr39/Lr35	BE500705																			
Sr38/Lr37/Yr17	Ventipur+Ln2																			
Sr36	STM773-2																			
Sr35	NL9F5+NL9R6																			
Sr31/Lr26/Yr9	PcEN-2																			
Sr26	BE5I8379																			
	Sr26#43																			
Sr25/Lr19	Xwmc221																			
Sr24/Lr24	Sr24#12																			
Sr23/Lr16	XTalr16_RGA266585																			
Sr22	CFA2019																			
Sr15/Lr20/Pm1	Xsis638																			
Sr2	Sr2_get9 3p	HEX- аллель	FAM- аллель																	
	Xgwtb533																			
Гены устойчивости	ДНК-маркеры	#	Сорта/линии																	
		26	Эритросперм ум 44-18	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
		27	Лютеценс 22-18	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		28	Лютеценс 46-19	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		29	Эритросперм ум 28-19	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		30	Лютеценс 18-19	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
		31	Элемент 22 (st)	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		32	ОмГАУ 100	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		33	Силантий	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		34	Лютеценс 12-18	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		35	Лютеценс 62-19	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		36	Эритросперм ум 22-19	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		37	Лютеценс 24-19	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
		38	Лютеценс 70-19	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		39	Лютеценс 21-19	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
		40	Эритросперм ум 53-15	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		41	Лютеценс 34-17	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		42	Эритросперм ум 28-18	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		43	Лютеценс 90-18	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		44	Эритросперм ум 4-16	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
		45	Лютеценс 34-16	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
		46	Лютеценс 63-16	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		47	Лютеценс 123-13	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		48	Лютеценс 126-15	0	-	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
		49	Лютеценс 76-17	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		50	Лютеценс 81-17	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		51	Лютеценс 89-18	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0
		52	Эритросперм ум 40-18	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
		53	Эритросперм ум 36-18	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0

Sr6A#2	TNAC1752_TaqI																							
Sr57/Lr34/Yr18/ Pm38	csLV34																							
Sr45	cssu45																							
Sr44	Xbe404728																							
Sr39/Lr35	BE500705																							
Sr38/Lr37/Yr17	Ventipur+Ln2																							
Sr36	STM773-2																							
Sr35	NL9F5+NL9R6																							
Sr31/Lr26/Yr9	PCEN-2																							
Sr26	BE518379																							
	Sr26#43																							
Sr25/Lr19	Xwmc221																							
Sr24/Lr24	Sr24#12																							
Sr23/Lr16	XTalr16_RGA266585																							
Sr22	CFA2019																							
Sr15/Lr20/Pm1	Xs638																							
Sr2	Sr2_gen9 3p																							
	HEX- аллель FAM- аллель																							
Гены устойчивости	ДНК-маркеры	#	Сорта/линии																					
		54	Лютесценс 35-18	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		55	Эритросперм ум 96-15	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		56	Лютесценс 89-15	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		57	Лютесценс 66-16	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		58	Эритросперм ум 5-17	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		59	K-81	1	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		60	K-1593	1	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		61	K-11750	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		62	K-17983	1	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		63	K-18617	1	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		64	K-21582	1	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		65	K-23647	1	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		66	K-23652	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		67	K-23653	1	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		68	K-34583	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		69	K-35890	1	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		70	K-40170	1	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		71	3173	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		72	3202	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		73	3238	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		74	3245	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		75	3297	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		76	3365	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		77	Эритросперм ум 79/07	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
		78	Лютесценс ШТ-335	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		79	KS 115/09-1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		80	KS 161/08-2p	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
		81	KS 111/09-2	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		82	Линия 1616ae14	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		83	Линия 1617ae9	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		84	Лютесценс 417/10-5	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		85	L170 / 06-4	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		86	L114 / 10-14	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		87	Линия 375	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
88	Челяба 80	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0		
89	9-31	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0		
90	8-26	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0		
91	6-19	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
92	2-10	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		

Примечание: 1, присутствие аллеля по ожидаемому размеру амплифицированного фрагмента ПЦР для маркера; 0, отсутствие аллеля по ожидаемому размеру амплифицированного фрагмента ПЦР для маркера; исключение для маркера Sr2_gen9_3p: 1, FAM-аллель; 0, HEX-аллель; -, отсутствует аллель.

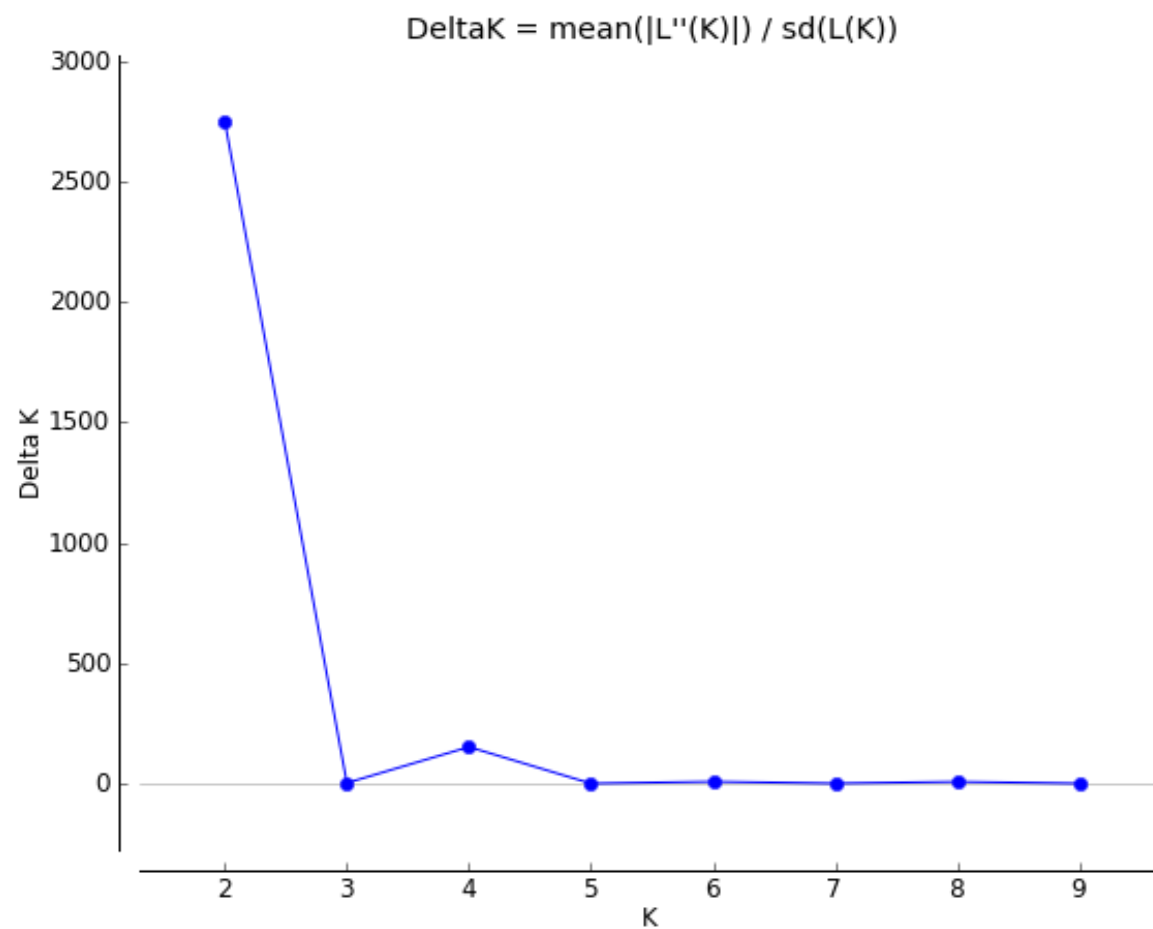
**Приложение 6. Последовательности микросателлитных праймеров,
использованных для оценки уровня генетического разнообразия популяции
*P. graminis***

Название праймера	Последовательность	Длина фрагмента	Литературный источник
21AAG-F 21AAG-R	GTTTGCCTGATGATGGATGA CCGAATGCAGATTACCCTTG	260–271	Stoxen, 2012
24-F 24-R	TCATCGACCAAGAGCATCAG TTCGGGAGTGAGTCTCTGCT	166–178	
CAA49-F1 CAA49-R1	TCGTCTGATCGTGAGAAACG GACGATTGCTGAGGATTGCT	128–164	
PgCAA8-F1 PgCAA8-R1	GGATGATCGGTCAGTTGGTT TGTCTGCCTGTCTGTCTCGAAC	198–228	
PgCAT4-F2 PgCAT4-R1	CCGTGTTCGATCCCAATAATC AGCAAGGTGAGAATCGGAAA	141–150	
109AGG-F 109AGG-R	TCATCGACCAAGAGCATCAG TTCGGGAGTGAGTCTCTGCT	187–193	Zhong et al., 2009
173-F 173-R	TCCCTTGACCTTTCTCAACG TCCATTGAGTTCCATCGTGA	195–213	
227AAG-F 227AAG-R	CACACGTCTCGAGGAACAGA CTCGTGGGATGAAGTCCATT	210–231	
293-F 293-R	GAACCTTGGCCTGAGTGCTA GCAGCCTACAGCAAGAATCC	258–270	
341AAC-F 341AAC-R	GATGTCGCACTCGGTTTCTT GGCCTTGGTACCCAATTTCT	232–235	
353-F 353-R	TCGAATCCCAAGGAACAGAG ACGTCTTGGGTTTCTGTGGA	253–259	
CAA53-F1 CAA53-R1	AGGCTCAACACCACCCATAC AGGAGGAGGTGAAGGGGATA	204–240	Jin et al., 2009
CAA93-F1 CAA93-R1	CACTCTCGCCAAACCTCATT CGCCTGTGATGGTTGTATTG	176–262	
CAA98-F1 CAA98-R1	ATTCGGATGGTCCGTTACTG CCATCCCACTCAAATCATCC	183–198	

Приложение 7. Список ДНК-маркеров к генам устойчивости к *P. graminis* f. sp. *tritici*

Гены	Хромосома	Происхождение	ДНК-маркеры	Тип ДНК-маркера	Литературный источник
<i>Sr2</i>	3BS	<i>Triticum turgidum</i>	Xgwm533	SSR	Mago et al., 2011
			Sr2ger93p	KASP	
<i>Sr15/Lr20/Pm1</i>	7A	<i>T. aestivum</i>	Xsts638	STS	Hu et al., 1997
<i>Sr22</i>	7A	<i>T. monococcum</i>	CFA2019	SSR	MAS
<i>Sr23/Lr16</i>	2BS	<i>T. aestivum</i>	XTaLr16_RGA266585	RGA	Harrison et al., 2015
<i>Sr24/Lr24</i>	3DL	<i>Agropyron elongatum</i>	Sr24#12	STS	MAS
<i>Sr25/Lr19</i>	7D	<i>Thinopyrum ponticum</i>	Xwmc221	SSR	Gupta et al., 2006
<i>Sr26</i>	6AL	<i>Ag. elongatum</i>	Sr26#43	STS	MAS
			BE518379	STS	
<i>Sr31/Lr26/Yr9</i>	1AS, 1BS	<i>Secale cereale</i>	PrCEN-2	-	Li et al., 2016
<i>Sr35</i>	3AL	<i>T. monococcum</i>	NL9	SSR	MAS
<i>Sr36</i>	2BL	<i>T. timophevi</i>	STM773-2	STS	
<i>Sr38/Lr37/Yr17</i>	2AS	<i>T. ventricosum</i>	Ventriup+Ln2	STS	
<i>Sr39/Lr35</i>	2B	<i>Aegilops speltoides</i>	BE500705	EST	
<i>Sr44</i>	7DS	<i>T. intermedium</i>	Xbe404728	CAPS	
<i>Sr45</i>	1DS	<i>Ae. tauschii</i>	cssu45	SSR	
<i>Sr57/Lr34/Yr18/Pm38</i>	7DS	<i>T. aestivum</i>	csLV34	STS	
<i>Sr6Ai#2</i>	6D	<i>T. intermedium</i>	TNAC1752_TaqI	CAPS	Salina et al., 2015

Примечание: CAPS, cleaved amplified polymorphic sequences; EST, expressed sequence tag; KASP, kompetitive allele specific PCR; SCAR, sequence characterized amplified region; RGA, resistance gene analog; SSR, simple sequence repeats; STS, sequence tagged site; MAS, Marker-assisted selection wheat (MASWheat - UC Davis — https://maswheat.ucdavis.edu/protocols/stem_rust_protocols).

Приложение 8. Оптимальные значения К, установленные с помощью онлайн программы Structure Harvester

**Приложение 9. Последовательности праймеров, использованных для поиска генов устойчивости к стеблевой ржавчине
(гены *Sr*)**

Ген	Молекулярный маркер	Структура праймеров (5' – 3')	Положительный контроль
<i>Sr2</i>	Xgwm533	F-GTTTGCCTGATGATGGATGA R-CCGAATGCAGATTACCCCTTG	Pavon76
	Sr2ger93p	FAM- GTGCGAGACATCCAACACTCAC HEX- GTGCGAGACATCCAACACTCAT Com.Pr.-CTCAAATGGTCGAGCACAAGCTCTA	
<i>Sr15</i>	Xsts638	F-TCGTCTGATCGTGAGAAACG R-GACGATTGCTGAGGATTGCT	W2691*2/NORKA-SR15
<i>Sr22</i>	CFA2019	F-GGATGATCGGTCAGTTGGTT R-TGTCTGCCTGTCTGTCTGAAC	SWSR22T.B.
<i>Sr23</i>	XTaLr16_RGA266585	F-CCGTGTGATCCCAATAATC R-AGCAAGGTGAGAATCGGAAA	LC-SR25-ARS
<i>Sr24</i>	Sr24#12	F-TCATCGACCAAGAGCATCAG R-TTCGGGAGTGAGTCTCTGCT	RL6064
	scs73	F-TCGTCCAGATCAGAATGTG R-CTCGTCGATTAGCAGTGAG	
<i>Sr25</i>	Xwmc221	F-TCCCTTGACCTTTCTCAACG R-TCCATTGAGTTCCATCGTGA	LC-SR25-ARS
<i>Sr26</i>	Sr26#43	F-CACACGTCTCGAGGAACAGA R-CTCGTGCGGATGAAGTCCATT	EAGLE-SR26.SR9G
	BE518379	F-GAACCTTGGCCTGAGTGCTA R-GCAGCCTACAGCAAGAATCC	
<i>Sr31</i>	PrCEN-2	F-AATGATCTTCCACGACGACG R-CCTCGTTGGGAAATGGTGCA	Avrora
	w-sec-p1/2	F-GATGTCGCACTCGGTTTCTT R-GGCCTTGGTACCCAATTTCT	
<i>Sr35</i>	NL9	F-TCGAATCCCAAGGAACAGAG R-ACGTCTTGGGTTTCTGTGGA	W3763-SR35
<i>Sr36</i>	STM773-2	F-AGGCTCAACACCACCCATAC	Sr36(CI12632)/8*LMPG

		R-AGGAGGAGGTGAAGGGGATA	
<i>Sr38</i>	Ventriup+Ln2	F-CACTCTCGCCAAACCTCATT R-CGCCTGTGATGGTTGTATTG	TcLr37
<i>Sr39</i>	BE500705	F-ATTTCGGATGGTCCGTTACTG R-CCATCCCCTCAAATCATCC	RL6082
<i>Sr44</i>	Xbe404728	F-GGTGGTGCCTGTCAAGATT R-TTGATGGATCCTGGCTTAGG	Taf-2
<i>Sr45</i>	cssu45	F-CGAGTTTCAATACTTCGCCC R-GATTACTATGCAATAGGGCCC	нет контроля
<i>Sr57</i>	csLV34	F-GTTGGTTAAGACTGGTGATGG R-TGCTTGCTATTGCTGAATAGT	TcLr34
	Lr34 Plus	F-TTGATGAAACCAGTTTTTTTTTCTA R-GCCATTTAACATAATCATGATGGA	
<i>Sr6Ai#2</i>	TNAC1752_ <i>TaqI</i>	F-GATGTCGAGGAGCATTTTC R-CGAATAGTTATACTAGGAGTAC	Tulaykovskaya 10

Приложение 10. Инфекционные типы *P. graminis* f. sp. *tritici* раса МТМТС Омской области в 2019 году, идентифицированные на наборе пшеничных линий-дифференциаторов (*Pgt* differential set)

Гены <i>Sr</i>	Инфекционные типы возбудителя стеблевой ржавчины
5	4
21	1
9e	1
7b	3
11	3
6	4
8a	4
9g	3
36	3
9b	0
30	1
17	3
9a	3
9d	4
Sr10	3
Tmp	3
24	1
31	0
38	2+
McN	4
Хакасская (отечественный стандарт восприимчивости)	4
Могоссо (международный стандарт восприимчивости)	4

Приложение 11. Инфекционные типы пшеничных Sr-линий дифференциаторов, полученные в результате заражения образцами омской популяции возбудителя стеблевой ржавчины *P. graminis* f. sp. *tritici*

