

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

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени

кандидата биологических наук

Новосибирск — 2022

Работа выполнена в лаборатории молекулярной фитопатологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск.

Научный руководитель: **Сколотнева Екатерина Сергеевна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной фитопатологии, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН».

Официальные оппоненты: **Мироненко Нина Васильевна**, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунитета растений к болезням, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений Министерство науки и высшего образования Российской Федерации», г. Санкт-Петербург

Лиманцева Людмила Алексеевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории фитопаразитологии, ФГБУН «Институт проблем экологии и эволюции им А. Н. Северцова РАН», г. Москва

Ведущая организация: ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова», г. Москва

Защита диссертации состоится «___» _____ 2023 г. на утреннем заседании диссертационного совета 24.1.239.01 на базе ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» в конференц-зале Института по адресу: пр. ак. Лаврентьева 10, г. Новосибирск, 630090, +7(383)363-49-06, факс +7(383)333-12-78, e mail: dissov@bionet.nsc.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИЦиГ СО РАН и на сайте Института: www.icgbio.ru

Автореферат разослан «___» _____ 202_ г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук

Т.М. Хлебодарова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Возбудитель стеблевой ржавчины злаков — биотрофный гриб *Puccinia graminis* Pers.: Pers. f. sp. *tritici* Erikss. and E. Henn. является одним из агрессивных патогенов злаковых растений, может обуславливать высокие потери урожая мягкой и твердой пшеницы, ячменя и тритикале. Патоген вызывает нарушение транспирации стеблей растений, снижает их фотосинтетическую способность, что влияет на качество зерна и его хлебопекарные свойства.

Начиная с 2011 года во многих регионах возделывания мягкой пшеницы идет характерное ухудшение фитопатологической обстановки в отношении *P. graminis* f. sp. *tritici* (далее по тексту — *Pgt*). Частично это обусловлено появлением в 1998 году в Уганде новой высокоагрессивной расы ТТКСК (раса Ug99), которая преодолела эффективность гена устойчивости пшеницы *Sr31*. На данный момент выявлено более 80 генов устойчивости (гены *Sr* — Stem rust) к *Pgt*, однако часть из них уже потеряла свою эффективность к патогену (McIntosh et al., 2013). На территории Западной Сибири эпифитотийное развитие патогена было в 2009 и 2014 годах в Омской области (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.

Целью 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 по 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 *Pgt*, отобранных по признаку вирулентности и агрессивности из западносибирской популяции. Для каждого из них на тестерных изогенных *Sr*-линиях пшеницы (*Pgt* differential set) определена раса и проведена фотосъемка реакции на заражение.

Анализ генетического полиморфизма SSR-локусов монопустульных изолятов *Pgt* впервые позволил дифференцировать две самостоятельные популяции патогена на территории возделывания мягкой пшеницы в разных регионах умеренной 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 *Pgt* 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 ТКРPF и МТМТС. Сравнительная оценка полиморфизма SSR-локусов монопустульных изолятов *Pgt* 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 *Pgt* 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 *Pgt*.

Теоретическая и практическая значимость исследования. Полученные результаты вносят новые знания о популяционной биологии гриба-патогена *Pgt* 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 *Pgt* Западной Сибири с охарактеризованными расами является тестерным материалом для фитопатологического анализа сортов и линий пшеницы; списки расового состава западносибирской популяции *Pgt* 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 эффективного донора генов устойчивости к *Pgt* для использования в условиях Западной Сибири.

Методология и методы исследования. Диссертационная работа представляет собой экспериментальное исследование, выполненное на монопустульных изолятах *Pgt* и селекционных линиях и сортах яровой мягкой пшеницы. Методологическую основу данного исследования составляют методы молекулярной и популяционной биологии, фитопатологии, экспериментального моделирования на растениях, статистики, а также анализа данных отечественной и зарубежной литературы. При выполнении исследования и оформлении материала были применены общенаучные методы: теоретический и методологический анализ источников литературы, экспериментальные методы исследования и сравнительный анализ полученных данных.

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 *Pgt* 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 *Pgt* и выполнены фитопатологические работы по оценке вирулентности.

Апробация работы. Результаты работы были представлены на российских и международных научных конференциях: (1) 11th International Multiconference «Bioinformatics of Genome Regulation and Structure/Systems Biology», 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», 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», 06–10 июля 2020, Новосибирск, Россия; (6) XXVII Международная конференция

студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов», 10–27 ноября 2020, Москва, Россия; (7) 5-я Международная конференция «Генофонд и селекция растений», 11–13 ноября 2020, Новосибирск, Россия; (8) 6th International Scientific Conference «Plant genetics, genomics, bioinformatics, and biotechnology», 14–18 июня 2021, Новосибирск, Россия.

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.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Обзор литературы. Обобщая известную информацию по возбудителю стеблевой ржавчины пшеницы, можно сказать, что *Pgt* напрямую угрожает крупнейшему региону России по возделыванию яровой мягкой пшеницы — Западной Сибири (Сколотнева и др., 2020). Гриб остается одним из самых агрессивных патогенов зерновых культур, способных вызывать крупные потери урожая яровой мягкой пшеницы. Долгое время распространение и развитие инфекции *Pgt* 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 (Singh et al., 2016; Patroux et al., 2016a; 2016b; Lewis et al., 2018; Рсалиев, Рсалиев, 2018). Стоит помнить, что генотип районированных сортов пшеницы играет важную роль в отборе рас *Pgt* и формировании локальных резистентных популяций. Одним из факторов изменения расового состава популяции *Pgt* в регионе может являться введение и распространение новых сортов пшеницы, восприимчивых к *Pgt*. В силу климатических особенностей Западной Сибири возбудитель стеблевой ржавчины долгое время не имел экономического значения в регионе. Ситуация изменилась после эпифитотийного развития *Pgt* на производственных посевах пшеницы в Омске в 2009 году (Шаманин и др., 2015). По данным анализа международной лаборатории GRRC (Global Rust Reference Center, Дания) состав рас в популяции *Pgt* в 2016–2017 годах на территории Омской области и Алтайского края представлен большим разнообразием высоковирулентных рас (Shamanin et al., 2019). В популяциях *Pgt*, 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 (Jin et al., 2009; Stoxen, 2012; Zhong et al., 2009; Berlin et al., 2012).

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 (гены *Sr*) 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.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Споровый материал. Сбор инфицированного растительного материала *Pgt* проводился с 2017 по 2020 год с восприимчивых сортов яровой мягкой пшеницы (*T. aestivum*), выращиваемых на производственных и опытных полях в регионах Западной Сибири: Новосибирская, Омская области, Алтайский край.

Для сравнительного анализа генетического полиморфизма западносибирской популяции *Pgt* были привлечены европейские образцы *Pgt* из Центрального региона России. Материал был любезно передан сотрудниками ФГБНУ ВНИИФ (Московская область, Одинцовский район, р. п. Большие Вяземы).

Для иммуногенетического анализа яровой мягкой пшеницы была привлечена группа монопустульных изолятов *Pgt* из Красноярского края.

Получение и размножение монопустульных изолятов в условиях лаборатории. Монопустульный изолят *Pgt* — 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 и имеющих ровные края (Михайлова и др., 1998). Для накопления аналитического количества спор (около 25 мкг) было проведено пять последовательных уредогенераций на восприимчивом сорте Хакасская.

Растительный материал. При идентификации генов *Sr* использовали селекционный материал яровой мягкой пшеницы, адаптированный к условиям Западной Сибири, который был любезно предоставлен ФГБОУ ВО Омский ГАУ (Омская область) — 80 образцов пшеницы.

Для дифференциации рас *Pgt* использовали международный североамериканский набор тестерных линий пшеницы (*Pgt* differential set) (Roelfs, Martens, 1988, Jin et al., 2008). Тестерные линии были любезно переданы проф. Колмером (Министерство сельского хозяйства Канады), Моргуновым А. И. (Международный институт защиты пшеницы и кукурузы CIMMYT), проф.

Стефенсоном (Лаборатория по ржавчинным болезням пшеницы, Сельскохозяйственный институт, Миннесота, США).

Инокуляция растений спорами фитопатогенного гриба. Искусственная инокуляция растений спорами гриба проводилась в условиях лаборатории по методикам Всемирного справочного центра ржавчины (Global Rust Reference Center, Дания) (Skolotneva et al., 2020; URL: <https://agro.au.dk/forskning/internationale-platforme/wheatrust/stem-rust-tools-maps-and-charts>).

Определение рас *Pgt* с использованием международного набора тестерных линий пшеницы. Для описания фенотипов вирулентности использована буквенная номенклатура, основанная на определении вирулентности гриба к пяти группам тестерных линий пшеницы (Jin et al., 2008). Оценку инфекционных типов (ITs, infection types) *Pgt* проводили на 12–14 день после инокуляции в соответствии со шкалой Stakman et al. (1962). Устойчивой (Low, L) реакцией являлись 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 «;».

Полевая оценка яровой мягкой пшеницы по устойчивости к *Pgt*. Полевую оценку устойчивости мягкой пшеницы на стадии взрослого растения проводили на инфекционном фоне Сибирского питомника челночной селекции (СПЧС) в Омске с августа по сентябрь в 2018–2019 годах в соответствии с протоколами, описанными Olivera et al. (2012). Площадь и степень поражения злаковых растений возбудителем стеблевой ржавчины проводилась по модифицированной шкале Кобба (Койшыбаев, Муменджанов, 2016), которые подразделялись на восприимчивые (S — Susceptible), умеренно восприимчивые (MS — Moderately susceptible), умеренно устойчивые (MR — Moderately resistant) и устойчивые (R — Resistance).

Экстракция ДНК, амплификация и разделение фрагментов. Выделение геномной ДНК из растительной ткани и спор гриба проводили модифицированным методом экстракции СТАВ (Michiels et al., 2003). Количество ДНК образцов измеряли с помощью набора для анализа широкого диапазона на флуориметре Qubit. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили в 12–50 мкл реакционной смеси с оптимальным содержанием и концентрацией рабочих компонентов на амплификаторе Bio-Rad T100. Разделение фрагментов осуществляли в 1–5 % агарозном геле.

Секвенирование по Сэнгеру. Секвенирование по Сэнгеру ПЦР-фрагментов, амплифицированных с помощью праймеров к транскрибируемому спейсеру рибосомальных генов (ITS — internal transcribed spacer) (Barnes, Szabo, 2007) осуществляли на автоматическом генном анализаторе ABI 3130XL Genetic Analyser с использованием BigDye Terminator v3.1. в соответствии с протоколами производителя (Applied Biosystems, США) в ЦКП «Геномика» (ИХБФМ СО РАН, Новосибирск).

SSR-генотипирование монопустульных изолятов *Pgt*. Полиморфизм монопустульных изолятов *Pgt* с помощью SSR-маркеров (Jin et al., 2009; Stoxen, 2012; Zhong et al., 2009) анализировали на капиллярном секвенаторе ABI 3130XL Genetic Analyser (Applied Biosystems, США) в ЦКП «Геномика» (ИХБФМ СО РАН, Новосибирск).

Идентификация генов *Sr* в селекционных линиях и сортах яровой мягкой пшеницы. Для скрининга коллекции селекционных линий и сортов *T. aestivum* из ОмГАУ использовали праймеры, рекомендованные для маркер-вспомогательной селекции (MAS — Marker assisted selection) (URL: <https://maswheat.ucdavis.edu/>).

KASP-генотипирование селекционных линий и сортов яровой мягкой пшеницы. Генотипирование проводили с помощью KASP маркера 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) в соответствии с рекомендациями по генотипированию, а данные анализировали с помощью QuantStudio™ V2.6.0 (Applied Biosystems).

Статистическая обработка данных. Значимость различий в степени развития заболевания определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим проведением многогрангового теста Дункана с использованием языка R в программе RStudio v. 3.5.1.

Дендрограмма UPGMA степени сходства фенотипов вирулентности *Pgt* в различных точках Западной Сибири была получена с использованием программы SAHN пакета NTSYSPC, v. 2.1 (Exeter Software). Оценку степени дифференциации популяций *Pgt* проводили с помощью пакета программ VIRULENCE ANALYSIS TOOL (VAT) и ее расширенной версии (Kosman et al., 2008; Schachtel et al., 2012), вычисляя индекс расстояний Космана (KB_m), а также нормализованное значение индекса структурного разнообразия по Косману ($nD(T, KW)$). Внутрипопуляционное разнообразие *Pgt* по вирулентности оценивали с использованием индекса Шеннона (Sh) – разнообразие по фенотипам (Shannon, Weaver, 1949; Sheldon, 1969).

При статистической обработке данных по SSR-генотипированию использовали пакет программ GeneAlex. Оптимизацию иерархической структуры коллекции проводили путем подсчета ΔK в программе Structure 2.3.4. (Pritchard et al., 2009). Дендрограмму генетического родства монопустульных изолятов *Pgt* строили методом UPGMA с использованием программного обеспечения PAST 4.10.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

1. Создание коллекции монопустульных изолятов *Pgt*. В 2018—2021 годах была создана рабочая коллекция, включающая 238 монопустульных изолятов *Pgt*, выделенных из образцов инфекции, отобранных на стадии урединиопустул в Омской, Новосибирской областях и Алтайском крае. Принадлежность монопустульных изолятов к пшеничной форме возбудителя стеблевой ржавчины (*f. sp. tritici*) была подтверждена путем секвенирования по Сэнгеру последовательностей ITS рДНК.

2. Структура западносибирской популяции *Pgt* по признаку вирулентности.

2.1 Анализ состава фенотипов вирулентности западносибирской популяции *Pgt*. Проведен анализ 115 монопустульных изолятов (Новосибирская область — 35, Омская область — 46 и Алтайский край — 34), выделенных из популяций патогена, собранных в 2017–2018 годах, и определены их фенотипы (расы).

Общими расами оказались TKRPF, QHHSF 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 определялась раса TKRPF (вирулентная по отношению к *Sr5*, *Sr21*, *Sr9e*, *Sr7b*, *Sr6*, *Sr8a*, *Sr9g*, *Sr36*, *Sr9b*, *Sr17*, *Sr9a*, *Sr10*, *SrTmp*, *Sr38* и *SrMcN*) — до 36 % сбора *Pgt*, полученного в течение 2017–2018 годов. Среди образцов Алтайского края и Новосибирской области преобладали расы LKCSF и PKCSF с частотами 16 % и 11 %, соответственно Редкие расы чаще встречались в выборках из Омской области (RRGTF, RKRSF, RFRSF, RFRTF, RCRTF, QFRCF, QHHSF, SHHSF). Интересная группа рас M (MPLTF, MTNTF, MTLTF, MLNTF, MQNTF, MLLTF и MQLTF) была выявлена в основной выборке из Омской области, включенной в исследование, сбор 2018 года. Они различаются вирулентностью до трех генов устойчивости (*Sr6*, *Sr8a*, *Sr9g*, *Sr21*, *Sr30*) и выглядят как группа рас, возникающих в результате полового процесса.

В связи с разницей во времени появления инфекции и степенью развития *Pgt* в пределах Западно-Сибирского региона мы определили расы для локальной популяции патогена *Pgt* в Новосибирской области в 2017 году, так как в этом году был зарегистрирован период отсутствия развития болезни между первой и второй вспышками инфекции (таб. 1).

Таблица 1. Состав рас новосибирской популяции гриба *P. graminis* f. sp. *tritici*, 2017 г.

Частота рас	Ранняя инфекция ¹	Поздняя инфекция ²
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 (%) указана частота рас в популяции *Pgt* Новосибирской области; 1 — первая декада июня; 2 — вторая декада августа.

Обнаружено, что расы ранней и поздней инфекции не пересекаются. Данные по кластерному анализу показали, что большинство рас из образцов новосибирской ранней инфекции, группируются с расами, зарегистрированными в том же году в Омской области. Расы поздней инфекции группируются с расами, идентифицированными в образцах популяции Алтайского края. Согласно индексу Шеннона, все три выборки отличались высокой изменчивостью по признаку вирулентности. 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.).

2.2 Частота вирулентности западносибирской популяции *Pgt*. В ходе исследования в 2017–2018 годах в западносибирской популяции возбудителя стеблевой ржавчины не выявлено авирулентных изолятов к линиям с генами устойчивости *Sr5*, *Sr9a*, *Sr10*, *Sr38*, *SrMcN*. Все протестированные изоляты *Pgt* 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). Высокая

встречаемость вирулентности к *Sr24* была зарегистрирована среди омских образцов в 2017 году, остальные образцы *Pgt* были авирулентны к сортам с геном *Sr24*.

Вирулентность изолятов *Pgt* по отношению к *Sr6*, *Sr8a*, *Sr9b*, *Sr9d*, *Sr9g*, *Sr17* и *Sr36* была высокой в каждом географическом образце (частота от 52.0 % до 95.7 %). Среди образцов из Алтайского края обнаружена 100 % частота вирулентности по отношению к *Sr9d*, *Sr9g*, *Sr17*. Вирулентность изолятов *Pgt* по отношению к *Sr9e*, *Sr11*, *Sr30* была низкой в Омской области, с максимальной частотой 44.1 %, 34.2 % и 14.7 %, соответственно. Авирулентность к *Sr30* выявлена в образцах из Алтайского края. Региональные образцы сильно различались по вирулентности к линиям с генами *Sr7b*, *Sr21* и *SrTmp*. Образцы омской популяции характеризовались наиболее высокой вирулентностью ко всем этим генам (91.1 %, 67.7 % и 85.3 %, соответственно). Образцы из Алтайского края имели низкую вирулентность к *Sr7b* (23.5 %) и авирулентность к *Sr21*, *SrTmp*.

Результаты анализа вирулентности, полученные для каждой географической выборки, обработали с помощью статистического пакета программ Космана, применяемого для работы с генотипами вирулентности и оптимизированного непосредственно для возбудителей ржавчины злаков (Kosman et al., 2019; Gulyaeva et al., 2020). Получены сопоставимые показатели индекса расстояний Космана (KB_m) и нормализованные значения индекса структурного разнообразия $nD(T, KW)$. Наибольшие значения дифференциации получены при сравнении 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 западносибирскую популяцию *Pgt* как совокупность трех субпопуляций: омской, новосибирской и алтайской. Нормализованное значение индекса структурного разнообразия по Косману подтверждает этот вывод.

3. SSR генотипирование коллекции монопустульных изолятов *Pgt*. Для анализа генетического полиморфизма западносибирской популяции *Pgt* были подобраны 16 SSR-маркеров. Методом ПЦР-анализа изучен аллельный полиморфизм SSR-локусов у 233 монопустульных изолятов 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. На Западную Сибирь приходится 55 уникальных генотипов из трех географических выборок.

Всего выявлена 81 аллель; большинство из них, с разной представленностью, встречалось во всех четырех географических выборках *Pgt*. Три выборки из Западной Сибири характеризуются высоким аллельным разнообразием по SSR-локусам. Анализ частот аллелей показал, что некоторые из них могут быть диагностическими, поскольку их представленность была специфичной для той или иной географической выборки.

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 индексам генетических расстояний (F_{ST} , R_{ST}) значительной генетической обособленности между выборками монопустульных изолятов из Западной Сибири не выявлено. Низкие значения F_{ST} , полученные на основании анализа полиморфизма географических выборок с помощью селективно-нейтральных SSR-маркеров свидетельствуют об интенсивном процессе миграции спор на территории ареала азиатской популяции *Pgt*. Наибольшие различия наблюдаются между западносибирскими выборками и удаленной выборкой из Центрального региона ($F_{ST} = 0.248$; $R_{ST} = 0.972$).

4. Западносибирская популяция *Pgt*.

4.1 Вирулентность и фенотипический состав западносибирской популяции *Pgt*. Анализ фенотипического состава западносибирской выборки указывает на существование обособленной азиатской популяции *Pgt*, которая отличается высокой вирулентностью к линиям с генами *Sr5*, *Sr8a*, *Sr9a*. Линии с генами *Sr6*, *Sr7b*, *Sr8a*, *Sr9b*, *Sr9e*, *Sr11*, *Sr21*, *Sr30* и *Sr36* дифференцировали географические популяции 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 западносибирскую популяцию *Pgt* как совокупность трех субпопуляций: омской, новосибирской и алтайской ($KB_m = 0.107$ — омская и новосибирская субпопуляции; 0.242 — омская и алтайская; $0,155$ — новосибирская и алтайская. Наибольшая степень дифференциации выявлена между алтайской и омской субпопуляциями. Географические выборки *Pgt* 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 *Pgt* в Омской области. Высокая вариабельность внутри выборки (значение индекса Шеннона $I = 1.95$) является косвенным свидетельством наличия половой стадии в жизненном цикле возбудителя. В 2017–2018 годах раса 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.

Восприимчивые кустарники барбариса к *Pgt* 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 *Pgt* в Алтайском крае. Из-за мягкой и короткой зимы урединиоспоры способны выжить на озимой пшенице, площадь которой в регионе увеличилась за последнее десятилетие.

Полевое и лабораторное тестирование на вирулентность показало, что барбарис не является источником инфекции для пшеничных посевов в Новосибирской области. Следовательно, возбудитель стеблевой ржавчины пшеницы в Новосибирской области не эндемичен, а переносится ветром из соседних регионов. Это делает профиль вирулентности в местных образцах *Pgt* наиболее изменчивым (значения индекса Шеннона от 1.40 до 2.22) и зависит от полового отбора в соседних регионах. Однако проанализированная выборка *Pgt* из Новосибирской области, по-видимому, представляет собой смесь омской и алтайской субпопуляций. В Новосибирской области, вероятно, создаются климатические и другие условия, благоприятные для поддержания заносных спор *Pgt*, мигрирующих как в восточном направлении, из Омской области, так и с южными ветрами, из Алтайского края. Во время вегетационного периода 2017 года причиной ранней инфекции, вероятнее всего, стал занос инокулюма из Омской области. Вторичная инфекция была смешанного происхождения с преобладанием рас алтайской популяции. Кроме того, сходство доминантных рас в образцах *Pgt* с восприимчивого сорта Черныява-13 также указало на преимущество восточного вектора перемещения инокулюма: раса ТКРPF была зарегистрирована в Омской области в июле, а в Новосибирской области она была обнаружена только в августе.

4.2 Генетическая структура выборки западносибирской популяции монопустульных изолятов *Pgt* по микросателлитным локусам. С помощью 16 SSR-маркеров нами была 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.

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). Изоляты *Pgt* различаются по наличию диагностических аллелей и по частоте встречаемости отдельных аллелей. 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.

Индекс фиксации (Fis) 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. Однако для монопустульных изолятов из Омской области индекс фиксации (Fis) положительный, что подтверждает роль полового процесса в изменчивости гриба.

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. 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.

Данные кластерного анализа степени родства мультилокусных SSR генотипов демонстрируют отсутствие контакта между изолятами, локализованными в Центральном и Западно-Сибирском регионах. 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 *Pgt*, устанавливая принадлежность инокулюма к популяции Центрального региона России или к популяции, циркулирующей на территории крупных пшеничных регионов Западной Сибири.

5. Иммуногенетический анализ селекционных линий и сортов мягкой пшеницы.

5.1 Полевая оценка *T. aestivum* на устойчивость к *Pgt* в условиях южной лесостепи Западной Сибири. Полевой анализ устойчивости к возбудителю стеблевой ржавчины 80 образцов пшеницы ОмГАУ проводился на инфекционном фоне Сибирского челночного питомника (СПЧС), Омск, в период 2018–2019 годы. Более полная оценка была проведена в 2019 году, в силу благоприятных климатических условий для развития инфекции. В ходе полевых испытаний были идентифицированы четыре группы фенотипов (R, MR, S и SR). Основываясь на статистически значимых различиях (до 75,00 diff при $p < 0,05$), мы выделили 53 образца с устойчивостью R–MR. Инфекционные типы для этих образцов варьировали от «0» до «2+», за исключением «3-» для Лютесценс 90–18.

5.2 Генотипирование селекционных линий и сортов яровой мягкой пшеницы ДНК-маркерами на гены *Sr*. Проведено генотипирование коллекции 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 маркеров. Идентифицированы гены ювенильной устойчивости *Sr22*, *Sr24*, *Sr25* и *Sr44*, гены устойчивости взрослого растения *Sr2* и *Sr57*. Транслокации с генами *Sr6Ai/Sr6Ai#2*, *Sr26*, *Sr35*, *Sr36*, *Sr39*, *Sr48* не идентифицированы в исследуемой коллекции. В образцах пшеницы с устойчивостью R и MR идентифицированы девять генов устойчивости: *Sr2*, *Sr15*, *Sr23*, *Sr24*, *Sr25*, *Sr31*, *Sr38*, *Sr44* и *Sr57*. Генетическая устойчивость образцов пшеницы с устойчивостью R и MR имеет высокую степень вариативности.

5.3 Фитопатологический анализ селекционных линий и сортов мягкой пшеницы на стадии проростков. Для анализа ювенильной устойчивости образцов пшеницы ОмГАУ в условиях лаборатории использован тестерный изолят *Pgt Pgt_Omsk_19_7* с наибольшей частотой встречаемости среди омской выборки в период наблюдений в 2019–2020 годы. Он представляет собой расу МТМТС с генами *Avr24*, *Avr31* и *Avr38*, с помощью которых можно проверить присутствие генов *Sr31*, *Sr24* и *Sr38* в генотипе пшеницы. Гены *Sr31* и *Sr24* были подтверждены инфекционными типами «1» и «1;», полученными после заражения тестерными расами, для всех линий и сортов с устойчивостью R и MR, положительно генотипированных с помощью молекулярных маркеров. Инфекционные типы на проростках Лютесценс 12-18, 9-31 и 8-26 соответствовали классическому проявлению устойчивости гена *Sr38*, экспрессирующего умеренную устойчивость на стадии проростков «2» или «2+». Для линий Лютесценс 38-19 и Лютесценс 123-13 была описана специфическая устойчивость к возбудителю стеблевой ржавчины на стадии проростков (ювенильная устойчивость) по инфекционным типам.

5.4 Генетика устойчивости селекционных линий и сортов мягкой пшеницы к западносибирской популяции *Pgt*. Кроме популяционной генетики возбудителя стеблевой ржавчины мы изучили генетические взаимоотношения в патосистеме хозяин-патоген, так как это объекты межорганизменной генетики. В анализируемых образцах с устойчивостью R и MR идентифицированы 9 генов устойчивости: *Sr2*, *Sr15*, *Sr23*, *Sr24*, *Sr25*, *Sr31*, *Sr38*, *Sr44* и *Sr57*. Среди образцов с высокой устойчивостью на стадии проростков и взрослого растения были сорт Нива 55 (*Sr2*, *Sr23*, *Sr24*, *Sr31*) и гибридная линия L14/10-14 (*Sr25*, *Sr31*, *Sr44*). В результате двухлетних испытаний только образцы, характеризующееся устойчивостью R и MR (51 из 80), были признаны ценными для опережающей селекции. В этой группе большинство образцов содержали *Sr31* или *Sr44* в сочетании с *Sr57* или *Sr2*. Считается, что такая комбинация обеспечивает длительную устойчивость (Baranova et al., 2016; Shamanin et al., 2020). Нами было обнаружено в отдельных образцах до пяти генов устойчивости (например, Лютесценс 89-18: *Sr22*, *Sr23*, *Sr31*, *Sr44* и *Sr57*).

Среди образцов с устойчивостью R и MR только двенадцать имеют два или более гена *Sr*, которые обеспечили плейотропную устойчивость: Нива 55, Лютесценс 95-18, Эритроспермум 44-18, Лютесценс 126-15, Лютесценс 89-18, Лютесценс 35-18,

Лютесценс ШТ-335, Линия 1616ae14, Линия 1617ae9, Лютесценс 417/10-5, Л14/10-14 и Линия 375. Они могут быть ценными источниками с эффективными генами *Sr*.

Сочетания генов *Sr31+Sr44*, *Sr31+Sr24* и *Sr31+Sr25* обеспечивали эффективную устойчивость к западносибирской популяции *Pgt*. Четырнадцать образцов, несущих *Sr31* и *Sr44*, могут быть перспективными для селекции на устойчивость против западносибирской популяции, в которой преобладает авирулентность к *Sr31* (Skolotneva et al., 2020).

Температурочувствительные гены *Sr15*, *Sr22* и *Sr23* идентифицированы в образцах в сочетании с другими генами *Sr*, эффективными против западносибирской популяции.

Таким образом, в анализируемых образцах яровой мягкой пшеницы (i) идентифицированы крупные источники образцов 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 стеблевой ржавчине в регионах возделывания пшеницы в Западной Сибири.

5.5 Расширенный иммуногенетический анализ селекционных линий мягкой пшеницы с транслокацией 2NS/2AS. Селекционная ценность пшеницы, несущей транслокацию 2NS/2AS, обусловлена наличием комплекса генов устойчивости *Sr38*, *Lr37* и *Yr17*, которые сохраняют устойчивость к западносибирским популяциям возбудителей бурой и желтой ржавчины (Skolotneva et al., 2018; Гультьева, Шайдаюк, 2020).

При оценке монопустульных изолятов *Pgt* (2019–2020 гг.) из различных областей Сибири (Новосибирской, Омской областей, Алтайского и Красноярского краёв) была выявлена разница частот клонов гриба, не поражающих тестерные линии с *Sr38*, или авирулентные к ним. Был обнаружен возрастающий вектор с запада на восток: минимальная частота в Омской области против 100 %-ной авирулентности образца популяции из Красноярского края.

Для 6 линий пшеницы (Лютесценс 12-18, Лютесценс 81-17, Лютесценс 66-16; Эритроспермум 79/07, 9-31 и 8-26), экспрессирующихся в ответ на заражение авирулентными клонами гриба, подтверждено присутствие *Sr38*. На 2020 год западносибирская популяция *Pgt* представлена на 60 % авирулентными клонами к *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 образцы с *Sr38*, возрастет до 78 %.

Полученные данные по составу рас азиатской популяции *Pgt* 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.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые охарактеризована западносибирская популяция возбудителя стеблевой ржавчины *Pgt* на мягкой пшенице (*T. aestivum*), собранная в Новосибирской и Омской областях и Алтайском крае, то есть с максимальным охватом территории, являющейся в настоящее время ареалом 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 ТКРPF 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 обнаружены генотипы с комплексом генов, сцепленных с генами устойчивости к другим возбудителям ржавчины, которые будут эффективны против местного и заносного инокулюма видов *Puccinia*. Изученные селекционные образцы яровой мягкой пшеницы могут быть использованы для разработки 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 *Pgt* 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 ТКРPF — *Sr5*, *Sr21*, *Sr9e*, *Sr7b*, *Sr6*, *Sr8a*, *Sr9g*, *Sr36*, *Sr9b*, *Sr17*, *Sr9a*, *Sr10*, *SrTmp*, *Sr38*, *SrMcN*, а в 2019–2020 годах — раса МТМТС — *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 *Pgt* в западносибирском регионе.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

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>