



Внутривидовая изменчивость *Puccinia triticina* на гексаплоидных видах *Triticum* и *Aegilops trivialis*

Е.И. Гультяева , Е.А. Шайдаюк, И.А. Казарцев

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия

Анализ внутривидовой дифференциации патогена – необходимый этап при разработке стратегии селекции пшеницы на устойчивость к бурой ржавчине. Для характеристики популяций *Puccinia triticina* Erikss. могут быть использованы разные признаки, включая вирулентность к линиям серии Thatcher с генами устойчивости к бурой ржавчине (*TcLr*) и молекулярные маркеры. Цель работы – изучение внутривидовой изменчивости гриба *P. triticina* на гексаплоидных видах *Triticum* L. и *Aegilops trivialis* (Zhuk.) Migusch. et Chak. с помощью SSR-маркеров. Листья образцов гексаплоидных видов *Triticum aestivum* L., *T. compactum* Host., *T. macha* Dekapr. et Menabde, *T. petropavlovskyi* Udacz. et Migusch., *T. spelta* L., *T. sphaerococcum* Perc., *T. vavilovii* Jakubz. (геном BBA^uA^uDD), *Ae. trivialis* (геном D^uD^uDDMM) с урединиопустулами собирали на Дагестанской опытной станции ВИР (г. Дербент) в 2014 г. Для SSR-анализа использовали 109 монопустульных изолятов гриба, ранее охарактеризованных по вирулентности к 20 *TcLr*-линиям. Изучение полиморфизма 18 микросателлитных локусов позволило выявить 16 SSR-генотипов. Генетическое сходство между коллекциями изолятов с гексаплоидных видов пшеницы по молекулярным маркерам было существенно выше, чем по признаку вирулентности. Показано высокое генетическое сходство между дербентскими изолятами *P. triticina*, полученными с гексаплоидных видов родов *Triticum* (в том числе и мягкой пшеницы) и *Ae. trivialis*.

Ключевые слова: генетическая структура популяции; *Puccinia triticina*; *Aegilops trivialis*; *Triticum* spp.; SSR-маркеры.

Intraspecific variability of *Puccinia triticina* on hexaploid *Triticum* species and *Aegilops trivialis*

E.I. Gulytyeva , E.L. Shaydayuk, I.A. Kazartsev

All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Pushkin, Russia

The analysis of pathogen intraspecific differentiation is a necessary stage for the development of a strategy of wheat leaf rust resistance breeding. To characterize the structure of the populations, virulence to Thatcher lines with leaf rust resistance genes (*TcLr*) and microsatellite markers may be used. The purpose of the present research is to study the intraspecific variability of the fungus *Puccinia triticina* Erikss. on *Triticum* L. hexaploid species and *Aegilops trivialis* (Zhuk.) Migusch. et Chak. using SSR-markers. Leaves of *Triticum aestivum* L., *T. compactum* Host., *T. macha* Dekapr. et Menabde, *T. petropavlovskyi* Udacz. et Migusch., *T. spelta* L., *T. sphaerococcum* Perc., *T. vavilovii* Jakubz. and *Ae. trivialis* with uredinia were collected on the experimental field of the Dagestan experiment station of VIR (Derbent) in 2014. For SSR-analysis 109, monopustule isolates previously characterized for virulence to 20 *TcLr*-lines were used. As a result of 18 microsatellite loci polymorphism analysis, 16 genotypes were identified. Genetic similarity between collections of isolates from the hexaploid types of wheat was significantly higher based on microsatellite markers than based on virulence. Microsatellite analysis confirmed a high similarity between Derbent isolates of *P. triticina* coming from the hexaploid *Triticum* species (including isolates from common wheat) and *Aegilops trivialis*.

Key words: genetic structure of population; *Puccinia triticina*; *Aegilops trivialis*; *Triticum* spp.; SSR-markers.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Гультяева Е.И., Шайдаюк Е.А., Казарцев И.А. Внутривидовая изменчивость *Puccinia triticina* на гексаплоидных видах *Triticum* и *Aegilops trivialis*. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(6):671-676. DOI 10.18699/VJ17.28-0

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Gulytyeva E.I., Shaydayuk E.L., Kazartsev I.A. Intraspecific variability of *Puccinia triticina* on hexaploid *Triticum* species and *Aegilops trivialis*. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(6):671-676. DOI 10.18699/VJ17.28-0 (in Russian)

Создание устойчивых к болезням сортов – актуальное направление селекции. Для расширения генетического разнообразия современных сортов мягкой пшеницы применяют метод межвидовой гибридизации с привлечением диких родичей. Гексаплоидные виды с геномом ВА^uD имеют высокую совместимость с *Triticum aestivum* L. и широко используются в селекции. Многие современные сорта мягкой пшеницы получены с участием *T. compactum* Host., *T. spelta* L., *T. sphaerococcum* Pers. и других гексаплоидных видов (Дорофеев и др., 1987).

Бурая ржавчина (возбудитель *Puccinia triticina* Erikss., синоним *P. recondita* Rob. ex Desm. f. sp. *tritici*) – распространенное и вредоносное заболевание пшеницы в Российской Федерации (Михайлова, 2008). Научно обоснованная селекция мягкой пшеницы на устойчивость к бурой ржавчине в России проводится более полувека и базируется на положениях теории иммунитета растений к инфекционным заболеваниям, сформулированных Н.И. Вавиловым (1935). Наряду с необходимостью изучения генетического разнообразия растения-хозяина, географических закономерностей распределения устойчивых форм и генетики их устойчивости, Н.И. Вавилов отводил особую значимость исследованиям взаимодействия растений и патогена, а также внутривидовой дифференциации и специализации патогена.

В вегетативной фазе развития (урединостадии) грибок поражает не только *T. aestivum* L., но и другие культурные и дикие злаки из родов *Triticum* L., *Aegilops* L., *Elymus* L., *Bromus* L. (Bolton et al., 2008). До недавнего времени вирулентности была единственным признаком для характеристики генетического разнообразия и структуры популяций *P. triticina* (Михайлова, Васильев, 1985; Михайлова, 2006; Kolmer et al., 2007). Однако селективное действие растения-хозяина приводит к отбору определенных патотипов, что отражается на результатах анализа структуры популяции по признаку вирулентности. В связи с этим фенотипический состав патогена может существенно варьировать на генетически разнородных сортах, выращиваемых в одинаковых условиях (Берлянд-Кожевников и др., 1978).

Селективно-нейтральные молекулярные маркеры (RAPD, AFLP и SSR) начали применять для популяционных исследований *P. triticina* с середины 1990-х гг. (Kolmer et al., 1995; Kolmer, Liu, 2000; Park et al., 2000; Duan et al., 2003; Szabo, Kolmer, 2007). С использованием SSR-маркеров (simple sequence repeats) показаны существенные различия между популяциями гриба, обитающими на видах *T. aestivum*, *T. durum* Desf. и *Ae. speltoides* Tausch. (Ordoñez, Kolmer, 2007). С помощью метода секвенирования интрон-содержащих участков конститутивных генов *RPB2* и информативных для рода *Puccinia* SSR-локусов доказана независимая дивергенция гриба на диплоидном виде *Ae. speltoides*, тетраплоидных формах твердой пшеницы из Эфиопии (*T. durum*) и гексаплоидной мягкой пшенице (*T. aestivum*) (Liu et al., 2014). Подобная информация об изолятах гриба, обитающих на других видах родов *Triticum* и *Aegilops*, в литературе отсутствует.

Дагестан, где наблюдается совместная эволюция растений-хозяев с возбудителем бурой ржавчины, относится к переднеазиатскому генетическому центру видообразования пшениц. В естественных ценозах произрастают

Ae. tauschii (Coss.) Schmalh., *Ae. cylindrica*, *Ae. triuncialis* L., *Ae. biuncialis* Viz., *Ae. triaristata* Willd., *T. persicum* Vav. ex Zhuk., *T. dicoccum* (Schrank) Schubl. (Берлянд-Кожевников и др., 1978; Дорофеев и др., 1987; Богуславский, Голик, 2004). На коллекционном поле Дагестанской опытной станции ВИР (ДОС ВИР) ежегодно изучают образцы мягкой пшеницы и других видов родов *Triticum* и *Aegilops*. Гетерогенность растений-хозяев на экспериментальных посевах и в естественных ценозах обеспечивает высокое разнообразие популяции *P. triticina* (Дмитриев и др., 1976). Л.А. Михайлова на основании многолетних исследований (1972–1990) внутривидовой изменчивости *P. triticina* по вирулентности на мягкой пшенице показала, что дербентская популяция не зависима от европейских и других северокавказских популяций, например краснодарской. Она сходна с грузинскими, азербайджанскими, осетинскими и другими кавказскими популяциями и на основании этого отнесена к кавказской группе (Михайлова, 2006). Отличия дербентской популяции *P. triticina* от других российских сохранялись и в 2000–2015 гг. (Гультяева и др., 2009, 2015). Эти отличия подтверждены и при использовании микросателлитных маркеров (Гультяева и др., 2017а).

Разнообразие изучаемых на ДОС ВИР образцов пшеницы предопределяет высокий полиморфизм популяции. Показаны существенные различия по вирулентности между дербентскими изолятами, обитающими на мягкой и других видах пшеницы. Например, изоляты с тетраплоидных видов *T. durum* Desf., *T. diccoides* (Körn. ex Asch. & Graebner) Schweinf., *T. dicoccum* имели меньшее число аллелей вирулентности по сравнению с изолятами, обитающими на *T. aestivum* (Дмитриев и др., 1976; Берлянд-Кожевников и др., 1978; Михайлова, Метревели, 1986; Gulyaeva et al., 2016). В.М. Берлянд-Кожевников с коллегами (1978) показали различную вирулентность для пшеницы урединосторового материала, собранного на *Aegilops* spp. Чем выше плоидность видов *Aegilops*, тем шире спектр вирулентности изолятов *P. triticina*. Сходные результаты получены нами для изолятов, выделенных с *Triticum* spp. (Gulyaeva et al., 2016). С использованием 20 почти изогенных линий сорта Thatcher с известными генами *Lr* (линии TcLr) выявлено, что изоляты, полученные с образцов тетраплоидных видов *T. aethiopicum* Jakubz., *T. turanicum* Jakubz. и *T. dicoccum* (Schrank) Schübl., существенно отличаются от изолятов с гексаплоидных видов *Ae. juvenalis* (Thell.) Eig., *Ae. trivialis* (Zhuk.) Migusch. et Chak., *T. compactum*, *T. macha* Dekapr. et Menabde, *T. petropavlovskiyi* Udacz. et Migusch., *T. spelta*, *T. sphaerococcum*, *T. vavilovii* Jakubz. (Gulyaeva et al., 2016). С помощью микросателлитных маркеров подтверждены сходство изолятов, полученных с тетраплоидных видов, имеющих геном ВВА^uA^u (*T. aethiopicum*, *T. turanicum* и *T. dicoccum*), и их отличие от изолятов с тетраплоидного вида *Ae. crassa* (геном D^cD^cMM) и мягкой пшеницы (геном ВВА^uA^uDD) (Гультяева и др., 2017б). Полиморфизм дербентских изолятов, обитающих на гексаплоидных видах *Triticum* и *Aegilops*, по микросателлитным локусам до настоящего времени не исследован. Цель работы – изучение внутривидовой изменчивости гриба *P. triticina* на гексаплоидных видах *Triticum* L. и *Aegilops trivialis* (Zhuk.) Migusch. et Chak. с помощью SSR-маркеров.

Материалы и методы

Листья с урединиопустулами были собраны в 2014 г. на коллекционном поле ДОС ВИР (г. Дербент) с образцов гексаплоидных видов пшеницы *T. compactum* (к-35211, Турция; к-49138, Афганистан; к-41308, Монголия), *T. macha* (к-28168, Грузия), *T. petropavlovskiyi* (к-64828, Мексика), *T. spelta* (к-619609, Афганистан; к-19385, Украина; к-56569, к-52469, Таджикистан), *T. sphaerococcum* (и-619564, Ирак), *T. vavilovii* (к-29533, к-51765, Армения), *T. aestivum* (смесь листьев восприимчивых сортов) с геномом ВВА^uА^uDD и с *Ae. trivialis* (к-658, и-1349, Узбекистан) с геномом D^cD^cDDMM.

Изученные изоляты ранее были охарактеризованы по признаку вирулентности (Gulyaeva et al., 2016). Для обозначения фенотипов использована буквенная номенклатура (Long, Kolmer, 1989), основанная на определении вирулентности к пяти группам из двадцати *Lr*-линий: 1 – *Lr1*, *Lr2a*, *Lr2c*, *Lr3a*; 2 – *Lr9*, *Lr16*, *Lr24*, *Lr26*; 3 – *Lr3ka*, *Lr11*, *Lr17*, *Lr30*; 4 – *Lr2b*, *Lr3bg*, *Lr14a*, *Lr14b*; 5 – *Lr15*, *Lr18*, *Lr19*, *Lr20*.

Для микросателлитного анализа отобрано 109 монопустульных изолятов гриба (табл. 1). Размножение спорного материала выполнено с использованием метода лабораторного культивирования патогена (Михайлова и др., 2000).

Выделение ДНК гриба проводили по методике (Justesen et al., 2002). Для SSR-анализа использовали 18 микросателлитных маркеров (PtSSR13, PtSSR50, PtSSR55, PtSSR61, PtSSR76, PtSSR91, PtSSR92, PtSSR151, PtSSR152, PtSSR158, PtSSR161, PtSSR164, PtSSR173, PtSSR186, PtSSR68, RB8, RB26, RB35). Данные маркеры широко применяются для изучения полиморфизма гриба *P. triticina* по SSR-локусам (Duan et al., 2003; Kolmer, Ordoñez, 2007; Ordoñez, Kolmer, 2007; Szabo, Kolmer, 2007). Условия ПЦР и последовательности праймеров представлены в оригинальных работах (Duan et al., 2003; Szabo, Kolmer, 2007). Для амплификации использовали термоциклер C1000™ Thermal Cycler (BIO-RAD). Микросателлитный анализ выполняли на генетическом анализаторе ABI Prism 3500 (ABI-Hitachi, Япония). Определение размеров SSR-аллелей осуществляли в программе GeneMapper v4.1.

Статистическую обработку данных SSR-анализа проводили с использованием пакета программ GenAIEx 6.5

(Genetic analysis in Excel, 6.5 <http://biology.anu.edu.au/GenAIEx>). Для характеристики внутривидовой генетической изменчивости по микросателлитным локусам использовали следующие показатели: среднее число аллелей на локус (Na), число эффективных аллелей (Ne), % полиморфных локусов, ожидаемая (H_e) и наблюдаемая (H_o) гетерозиготность, индекс фиксации (F) и индекс Шеннона (I). Генетическую дифференциацию между популяциями определяли по индексам F_{st} и Нея (Nei D, Nei genetic distance), которые были рассчитаны с использованием алгоритма AMOVA (GenAIEx) (для 999 пермутаций). Дендрограмма генетического сходства между популяциями построена в пакете программ NTSYSpc 2.21 по индексу Нея. Аналогичная дендрограмма для этих же коллекций изолятов построена по признаку вирулентности на основании ранее проведенного анализа (Gulyaeva et al., 2016).

Показатели дифференциации популяций, полученные с помощью двух методических подходов (SSR-анализа и вирулентности), сравнивали с использованием теста Мантеля на основании оценки расстояний между соответствующими матрицами (по индексам F_{st} и Nei D).

Результаты и обсуждение

При анализе полиморфизма 18 микросателлитных локусов у изолятов *P. triticina* с гексаплоидных видов *Triticum* и *Ae. trivialis* выявлено 16 генотипов (табл. 2). Доминировали два генотипа: F (51 %) и H (14 %). Генотип F идентифицирован у 56 изученных изолятов (15 – *T. compactum*, 8 – *Ae. trivialis*, 2 – *T. macha*, 3 – *T. petropavlovskiyi*, 11 – *T. vavilovii*, 3 – *T. sphaerococcum*, 14 – *T. spelta*), а генотип H – у 15 (6 – *T. aestivum*, 2 – *T. sphaerococcum*, 7 – *T. spelta*). Восемь SSR-генотипов были оригинальными и отмечены только на одном из изученных видов (*T. spelta* – E, P (к-619609), J (к-19385), *T. compactum* – N (к-35211), G (к-49138), *Ae. trivialis* – M (к-658), *T. vavilovii* – L (к-51765), *T. aestivum* – O).

Существенные различия в генотипическом составе у изолятов, полученных с разных образцов *T. compactum* (к-35211, к-49138, к-41308), *T. spelta* (к-619609, к-19385, к-56569, к-52469), *T. vavilovii* (к-29533, к-51765) и *Ae. trivialis* (к-658, и-1349), не выявлены. В табл. 2 и 3 представлены сводные данные для этих видов.

Table 1. The origin of *P. triticina* isolates and their virulence phenotypes

Host plant	Number of isolates	Number of phenotypes	Phenotypes*
<i>Ae. trivialis</i>	10	1	PGTKB
<i>T. spelta</i>	34	5	CHTKG KHTTL KHTTQ PHTKB PHTKG
<i>T. sphaerococcum</i>	6	3	PGTKG NBDTG NGTFG
<i>T. vavilovii</i>	15	4	MGTKG TGTTQ BTKG MGTKB
<i>T. petropavlovskiyi</i>	6	1	PHTKG
<i>T. macha</i>	7	2	PGTKG PGTJG
<i>T. compactum</i>	21	2	PGTKG PGTJG
<i>T. aestivum</i>	10	5	PGTKH PHTKG THTTQ PCTKG PCTKH

* Phenotypes found on several species are shown in bold.

Table 2. Parameters of the genetic variability of *P. triticina* isolates on wheat and *Aegilops* species according to SSR loci

Genetic variability parameters	<i>Ae. trivialis</i>	<i>T. spelta</i>	<i>T. sphaerococcum</i>	<i>T. vavilovii</i>	<i>T. petropavlovskyi</i>	<i>T. macha</i>	<i>T. compactum</i>	<i>T. aestivum</i>
Number of genotypes	3 (A, F, M)	9 (A, C, D, E, F, H, I, J, P)	3 (B, H, F)	3 (B, F, L)	4 (A, D, I, F)	2 (C, F)	5 (A, F, G, K, N)	4 (D, H, K, O)
Mean number of alleles per SSR locus (N _a)	1.17 ± 0.09*	1.67 ± 0.16	1.50 ± 0.17	1.50 ± 0.17	1.17 ± 0.09	1.17 ± 0.09	1.39 ± 0.12	1.33 ± 0.11
Number of effective alleles (N _e)	1.12 ± 0.07	1.16 ± 0.07	1.21 ± 0.09	0.12 ± 0.09	1.22 ± 0.07	1.16 ± 0.07	1.15 ± 0.07	1.17 ± 0.08
Observed heterozygosity (H _o)	0.11 ± 0.07	0.13 ± 0.07	0.16 ± 0.08	0.14 ± 0.07	0.10 ± 0.06	0.15 ± 0.08	0.13 ± 0.07	0.14 ± 0.07
Expected heterozygosity (H _e)	0.06 ± 0.04	0.09 ± 0.04	0.10 ± 0.04	0.11 ± 0.04	0.06 ± 0.04	0.08 ± 0.04	0.09 ± 0.04	0.10 ± 0.04
Fixation index (F)	-0.62 ± 0.12	-0.12 ± 0.11	-0.1 ± 0.16	-0.08 ± 0.16	-0.51 ± 0.08	-0.85 ± 0.06	-0.26 ± 0.19	-0.19 ± 0.16
Shannon index (I)	0.09 ± 0.05	0.16 ± 0.07	0.2 ± 0.07	0.18 ± 0.06	0.09 ± 0.05	0.11 ± 0.06	0.15 ± 0.16	0.16 ± 0.06

* Error of the mean.

Table 3. Genetic distances between collections of *P. triticina* isolates according to SSR loci (F_{st})

Wheat and <i>Aegilops</i> species	<i>Ae. trivialis</i>	<i>T. spelta</i>	<i>T. sphaerococcum</i>	<i>T. vavilovii</i>	<i>T. petropavlovskyi</i>	<i>T. macha</i>	<i>T. compactum</i>	<i>T. aestivum</i>
<i>Ae. trivialis</i>	0	0.28	0.19	0.27	0.32	0.09	0.28	0.09
<i>T. spelta</i>	0.01	0	0.33	0.26	0.35	0.07	0.14	0.11
<i>T. sphaerococcum</i>	0.03	0.01	0	0.38	0.34	0.1	0.23	0.23
<i>T. vavilovii</i>	0.01	0.01	0.03	0	0.35	0.09	0.15	0.06
<i>T. petropavlovskyi</i>	0.003	0.01	0.002	0.004	0	0.11	0.33	0.17
<i>T. macha</i>	0.09	0.06	0.07	0.06	0.08	0	0.05	0.06
<i>T. compactum</i>	0.004	0.01	0.02	0.02	0.001	0.07	0	0.11
<i>T. aestivum</i>	0.07	0.03	0.02	0.06	0.04	0.09	0.35	0

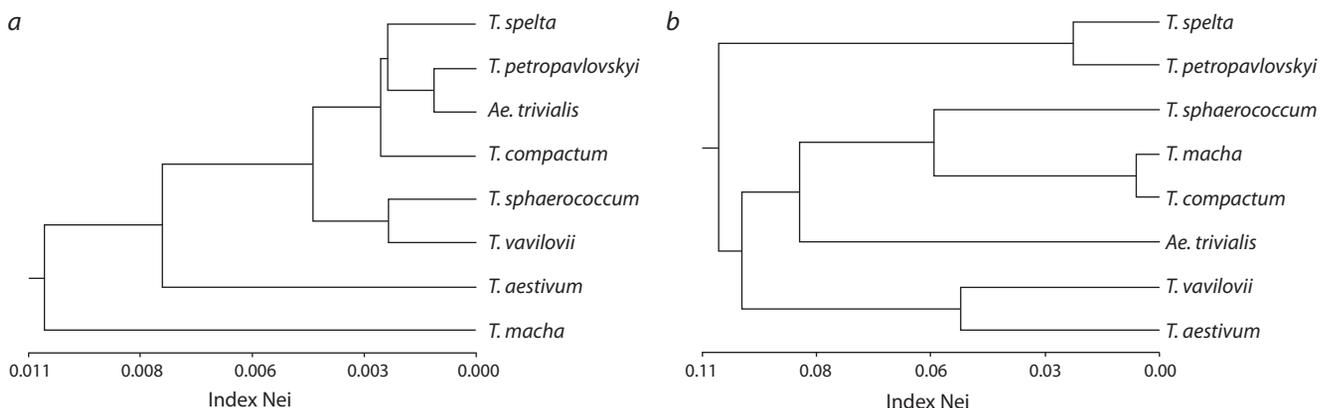
Numerator, significance level *p* obtained by 999 permutations (significant at *p* < 0.05); denominator, index F_{st}.

Идентифицировали 36 полиморфных аллелей. Число полиморфных аллелей варьировало от 2 до 3, за исключением локусов PtSSR76, PtSSR151, PtSSR173, RB8 и RB26, которые оказались мономорфными. Показатели генетической изменчивости изолятов *P. triticina* по микросателлитным локусам представлены в табл. 2. Уровень наблюдаемой гетерозиготности (H_o) был выше уровня ожидаемой (H_e) для всех популяций, что подтверждается отрицательными значениями индекса фиксации (F). Данный факт указывает на клонную репродукцию гриба (Baloux et al., 2003; Halkett et al., 2005; Kolmer, Ordoñez, 2007).

В.М. Берлянд-Кожевников с коллегами (1978) показали, что в урединальной стадии возбудитель бурой ржавчины в окрестностях ДОС ВИР в течение всего года паразитирует на *Synodon dactylon* L. и *Agropyron repens* (L.) Beauv. Ранней весной, а иногда и с осени болезнь появляется и на различных однолетних злаках. Распространение популяции возбудителя болезни с многолетних злаков на посевы пшеницы начинается с развития клонов, которые могут паразитировать на соответствующих растениях-хозяевах.

В конце марта урединиопустулы отмечали на образцах вида *Aegilops* (преимущественно на *Ae. cylindrica*), и лишь с конца апреля–начала мая первые симптомы ржавчины появлялись на мягкой пшенице и других видах *Triticum*, изучаемых на ДОС ВИР. Промежуточные растения-хозяева (*Thalictrum* spp., *Anchuga* spp.) также произрастают в условиях Дагестана, и на них наблюдали эцидиальную стадию гриба. При этом эции на растениях-промежуточниках появлялись, когда на растениях пшеницы, эгиплосов и пырея уже наблюдали урединиопустулы. Искусственное заражение проростков различных видов пшеницы в лабораторных условиях не было успешным, в связи с чем предположили, что половая стадия в жизненном цикле гриба в условиях Дагестана не имеет большого значения (Берлянд-Кожевников и др., 1978). Наши сведения о высокой гетерозиготности изолятов по SSR-маркерам в дагестанской популяции согласуются с данным предположением.

Анализ полиморфизма микросателлитных локусов у дербентских изолятов возбудителя бурой ржавчины пше-



Genetic distances between isolates from hexaploid *Triticum* and *Aegilops* species according to (a) markers and (b) virulence.

ницы, полученных с гексаплоидных видов родов *Triticum* и *Ae. trivialis*, не выявил различий между ними, на что указывают значения индексов генетических расстояний F_{st} (табл. 3) и Nei D (рисунок, а). Сходство между коллекциями изолятов с гексаплоидных видов по микросателлитным маркерам было существенно выше, чем по вирулентности. Согласно индексу Nei D (рисунок, б) и индексу Φ_{pt} (аналог F_{st} для бинарных матриц в AMOVA, GeneAlec), высоким сходством по вирулентности характеризовались изоляты, обитающие на видах *T. petropavlovskiy* и *T. spelta* ($F_{st} = 0.06$; $p = 0.32$), *T. sphaerococcum* и *T. macha* ($F_{st} = 0.1$; $p = 0.31$), *T. sphaerococcum* и *T. compactum* ($F_{st} = 0.23$; $p = 0.06$), *T. compactum* и *T. macha* ($F_{st} = 0.08$; $p = 0.38$). Большинство образцов этих видов, за исключением *T. spelta*, характеризуются высокой восприимчивостью к бурой ржавчине (Дорофеев и др., 1987).

С помощью двух разных методических подходов выявлено достаточно высокое генетическое разнообразие дербентской популяции *P. triticina*: 16 SSR-генотипов и 18 фенотипов вирулентности. По результатам анализа вирулентности практически на каждом виде (за исключением *T. macha* и *T. compactum*) наблюдали оригинальные фенотипы (см. табл. 1). При SSR-анализе их было значительно меньше (15 и 8 соответственно). Существенный полиморфизм по признаку вирулентности выявлен между изолятами, полученными с нескольких образцов одного вида, например с *T. spelta* (Gulyaeva et al., 2016). SSR-маркеры оказались более нейтральными, на что указывает высокое сходство генотипического состава по SSR-маркерам на разных образцах одного вида и в целом на гексаплоидных видах пшеницы и *Ae. trivialis*. Можно предположить, что это обусловлено генетической близостью видов-хозяев гриба (Митрофанова и др., 2009; Гончаров, 2012).

Более заметные различия между субпопуляциями гриба с гексаплоидных видов пшеницы и *Ae. trivialis* по признаку вирулентности по сравнению с SSR-анализом предопределили слабую корреляцию (коэффициент корреляции $r = 0.17$ по индексу F_{st} ; $r = 0.21$ по индексу Nei D) (Gulyaeva et al., 2016).

Использование молекулярных маркеров в исследованиях дербентской популяции *P. triticina*, развивающейся на мягкой пшенице и диких родичах, дополнило

имеющиеся сведения о генетической изменчивости гриба. SSR-маркеры и вирулентность в равной степени показали информативность для характеристики внутривидовой изменчивости гриба. Более высокое сходство между изолятами по микросателлитным локусам по сравнению с анализом вирулентности указывает на то, что для мониторинга появления новых агрессивных рас и изучения эффективности *Lr*-генов устойчивости основная информация может быть получена только с использованием признака вирулентности. Молекулярные маркеры актуальны в фундаментальных исследованиях микроэволюции популяций и при оценке коэволюции патогена и хозяина-биотрофа.

Acknowledgments

This study was supported by the Russian Science Foundation, project 14-26-00067.

The authors are grateful to Dr. Abdullaev, Dagestan experimental station of the Vavilov Institute of Plant Breeding for kindly provided brown rust inoculation material.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Balloux F., Lehmann L., de Meeus T. The population genetics of clonal and partially clonal diploids. *Genetics*. 2003;164:1635-1644.
- Berlyand-Kozhevnikov V.M., Dmitriev A.P., Budashkina E.B., Shitova I.T., Reiter V.G. Ustoychivost pshenitsy k buroy rzhavchine (geneticheskoe raznoobrazie populyatsiy griba i rasteniya-khozyaina) [Wheat resistance to leaf rust: The genetic diversity in populations of the fungus and host plant]. Novosibirsk: Nauka Publ., 1978. (in Russian)
- Boguslavskiy R.L., Golik O.V. Rod *Aegilops* L. kak geneticheskii resurs selektsii [The genus *Aegilops* as a genetic resource for breeding]. Kharkov, 2004. (in Russian)
- Bolton M.D., Kolmer J.A., Garvin D.F. Wheat leaf rust caused by *Puccinia triticina*. *Mol. Plant Pathol.* 2008;9(5):563-575. DOI 10.1007/s10681-011-0361-x.
- Dmitriev A.P., Mikhailova L.A., Shelomova K.F., Derevyankin A.I. Investigation of the ranges of races and genotypes in the Derbent population of *Puccinia recondita* Rob. ex Desm. in 1972–1973. *Mikologiya i fitopatologiya = Mycology and Phytopathology*. 1976; 10(4):302-306. (in Russian)

- Dorofeev V.F., Udachin R.A., Semenova L.V., Novikova M.V., Gradchaninova O.D., Shitova I.P., Merezhko A.F., Filatenko A.A. Pshenitsy mira [Wheat of the world]. Leningrad: Kolos Publ., 1987. (in Russian)
- Duan X., Enjalbert J., Vautrin D., Solignac C., Giraut T. Isolation of 12 microsatellite loci, using an enrichment protocol, in the phytopathogenic fungus *Puccinia triticina*. Mol. Ecol. Notes. 2003;3:65-67. DOI 10.1046/j.1471-8286.2003.00350.x.
- Goncharov N.P. Sravnitel'naya genetika pshenits i ikh sorodichey [Comparative genetics of wheats and related species]. Novosibirsk: Geo Publ., 2012. (in Russian)
- Gulyaeva E.I., Aristova M.K., Shaydayuk E.L., Mironenko N.V., Kazartsev I.A., Ahmetova A., Kosman E. Genetic differentiation of *Puccinia triticina* Erikss. in Russia. Genetika = Genetics (Moscow). 2017a;53(9):1053-1060. DOI 10.7868/S0016675817070037. (in Russian)
- Gulyaeva E.I., Baranova O.A., Dmitriev A.P. Virulence and population structure of *Puccinia triticina* in the Russian Federation in 2007. Vestnik zashchity rasteniy = Plant Protection News. 2009;4:333-338. (in Russian)
- Gulyaeva E.I., Shaydayuk E.L., Goncharov N.P., Akhmetova A., Abdullaev K.M., Belousova M.H., Kosman E. Virulence of *Puccinia triticina* on *Triticum* and *Aegilops* species. Australas. Plant Pathol. 2016;45(2):155-163. DOI 10.1007/s13313-016-0395-6.
- Gulyaeva E.I., Shaydayuk E.L., Kazartsev I.A. Population structure of *Puccinia triticina* on tetraploid wheat species. Mikologiya i fitopatologiya = Mycology and Phytopathology. 2017b;51(5):299-304. (in Russian)
- Gulyaeva E.I., Shaydayuk E.L., Kazartsev I.A., Aristova M.K. Structure of Russian populations of *Puccinia triticina* Erikss. Vestnik zashchity rasteniy = Plant Protection News. 2015;3(85):5-10. (in Russian)
- Halkett F., Simon J.C., Balloux F. Tackling the population genetics of clonal and partially clonal organisms. Trends Ecol. Evol. 2005;20:194-201. DOI 10.1016/j.tree.2005.01.001.
- Justesen A.F., Ridout C.J., Hovmöller M.S. The recent history of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in Denmark as revealed by disease incidence and AFLP markers. Plant Pathol. 2002;51:13-23. DOI 10.1046/j.0032-0862.2001.00651.x.
- Kolmer J.A., Jin Y., Long D.L. Wheat leaf and stem rust in the United States. Aust. J. Agric. Res. 2007;58:631-638.
- Kolmer J.A., Liu J.Q. Virulence and molecular polymorphism in international collections of the wheat leaf rust fungus *Puccinia triticina*. Phytopathology. 2000;90(4):427-436. DOI 10.1094/PHYTO.2000.90.4.427.
- Kolmer J.A., Liu J.Q., Siem M. Virulence and molecular polymorphism in *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* in Canada. Phytopathology. 1995; 85:276-285.
- Kolmer J.A., Ordoñez M.E. Genetic differentiation of *Puccinia triticina* populations in Central Asia and the Caucasus. Phytopathology. 2007;97:1141-1149. DOI 10.1094/PHYTO-97-9-1141.
- Liu M., Rodrigue N., Kolmer J. Population divergence in the wheat leaf rust fungus *Puccinia triticina* is correlated with wheat evolution. Heredity. 2014;112:443-453. DOI 10.1038/hdy.2013.123.
- Long D.L., Kolmer J.A. A North American system of nomenclature for *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*. Phytopathology. 1989;79:525-529.
- Mikhailova L.A. Genetika vzaimootnosheniy vzbuditelya buroy rzhavchiny i pshenitsy. Pod red. akad. RASKhN M.M. Levitina [M.M. Levitin (Ed.). The genetics of the relationships between the brown rust causative agent and wheat]. St.-Petersburg: VIZR Publ., 2006. (in Russian)
- Mikhailova L.A. *Puccinia recondita* Rob. ex Desm. f. sp. *tritici* – Wheat leaf (brown) rust. A.N. Afonin, S.L. Greene, N.I. Dzyubenko, A.N. Frolov (Eds.). Interactive Agricultural Ecological Atlas of Russia and Neighboring Countries: Economic Plants and their Diseases, Pests and Weeds. 2008. Available at <http://www.agroatlas.ru/en/content/diseases/Tritici/index.html>. (in Russian)
- Mikhailova L.A., Gulyaeva E.I., Mironenko N.V. Methods of study of the population structure of the wheat leaf rust causative agent *Puccinia recondita* Rob. ex Desm. f. sp. *tritici*. Immuno-geneticheskie metody sozdaniya ustoychivyykh k vrednym organizmam sortov [Immunogenetic methods of the development of pest-resistant varieties]. St.-Petersburg, 2000. (in Russian)
- Mikhaylova L.A., Metreveli T.G. Population structure of *Puccinia recondita* Rob. ex Desm. f. sp. *tritici* on different wheat species. Mikologiya i fitopatologiya = Mycology and Phytopathology. 1986; 20:138-142. (in Russian)
- Mitrofanova O.P., Strelchenko P.P., Konarev A.V., Balfourier F. Genetic differentiation of hexaploid wheat inferred from analysis of microsatellite loci. Russian Journal of Genetics. 2009;45(11):1351-1559. DOI 10.1134/S102279540911009X. (in Russian)
- Mikhaylova L.A., Vasil'ev S.V. Geographic ranges of populations of the wheat leaf rust agent. Mikologiya i fitopatologiya = Mycology and Phytopathology. 1985;19(2):158-163. (in Russian)
- Ordoñez M.E., Kolmer J.A. Simple sequence repeat diversity of a worldwide collection of *Puccinia triticina* from durum wheat. Phytopathology. 2007;97:574-583. DOI 10.1094/PHYTO-97-5-0574.
- Park R.F., Jahoor A., Felsenstein F.G. Population structure of *Puccinia recondita* in Western Europe during 1995 as assessed by variability in pathogenicity and molecular markers. Phytopathology. 2000;148: 169-179. DOI 10.1046/j.1439-0434.2000.00458.x.
- Szabo L.S., Kolmer J.A. Development of simple sequence repeat markers for the plant pathogenic rust fungus *Puccinia triticina*. Mol. Ecol. 2007;7:708-710. DOI 10.1111/j.1471-8286.2007.01686.x.
- Vavilov N.I. Nauchnye osnovy selektsii pshenitsy [Scientific bases of wheat breeding]. Moscow–Leningrad: Selkhozgiz Publ., 1935. (in Russian)