



Характеристика вирулентности популяций *Puccinia triticina* и перспективы использования генов *Lr24*, *Lr25*, *LrSp* в селекции яровой мягкой пшеницы на Южном Урале

В.А. Тюнин¹✉, Е.Р. Шрейдер¹, Е.И. Гультяева², Е.Л. Шайдаюк²

¹ Челябинский научно-исследовательский институт сельского хозяйства, Челябинская область, Чебаркульский район, пос. Тимирязевский, Россия
² Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия

Для успешной генетической защиты пшеницы от бурой ржавчины и своевременного выявления патотипов с вирулентностью к используемым генам устойчивости необходим постоянный мониторинг популяций возбудителя. Цель настоящей работы – анализ вирулентности *Puccinia triticina* в Челябинской области и мониторинг эффективности *Lr*-генов в полевых условиях для обоснования и стабилизации генетической защиты пшеницы от бурой ржавчины на Южном Урале. Инфекционный материал собран с районированных и перспективных сортов мягкой пшеницы на селекционном участке Челябинского научно-исследовательского института сельского хозяйства (ЧНИИСХ) в 2014–2016 гг. Протестировано 383 монопустьных изолята, из них 180 в 2014 г., 131 – 2015, 72 – 2016 г. Высокой эффективностью характеризовался ген *Lr24*. Единичный изолят, вирулентный к линии *TcLr19*, отмечен в 2014 г. Изоляты, вирулентные к гену *Lr9*, встречались ежегодно как на сортах-носителях данного гена, так и без него, и все они характеризовались авирулентностью к гену *Lr26*. С помощью 20 *TcLr*-линий выявлено 27 фенотипов. Фенотипы TQTTR и TGTTR, авирулентные к линиям *TcLr19*, *TcLr24*, *TcLr26* и *TcLr9*, *TcLr19*, *TcLr24*, *TcLr26* соответственно, были общими в 2014–2016 гг. Согласно индексу Нея (N), не выявлено существенных различий по вирулентности между образцами челябинских популяций в 2014–2016 гг. Полученные результаты по эффективности *Lr*-генов в фазе проростков коррелировали с оценками линий Thatcher, образцов селекционного материала и сортов с известными *Lr*-генами в полевых условиях в селекционных посевах ЧНИИСХ. В селекции пшеницы на Урале перспективны высокоэффективные гены *Lr24*, *Lr25*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr37*. Использование этих генов и пирамидирование генов, частично утративших эффективность, позволяют расширить генетическое разнообразие новых сортов и стабилизировать состав популяций патогена. В полевых условиях Уральского региона выявлены следующие эффективные сочетания генов: *Lr9 + Lr19*, *Lr9 + Lr26*, *Lr9 + Lr37*, *Lr9 + Lr10 + Lr26* и *Lr9 + Lr26 + Lr37*.

Ключевые слова: бурая ржавчина; *Lr*-гены; мягкая пшеница; сорт; вирулентность; устойчивость.

Characteristics of virulence of *Puccinia triticina* populations and the potential of the *Lr24*, *Lr25*, *LrSp* genes for spring common wheat breeding in the Southern Ural

V.A. Tyunin¹✉, E.R. Shreyder¹, E.I. Gulytaeva², E.L. Shaydayuk²

¹ Chelyabinsk Scientific Research Institute of Agriculture, Chelyabinsk Region, Chebarkulsky district, Timiryazevsky, Russia
² All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Pushkin, Russia

Monitoring of pathogen populations is important for successful genetic wheat protection against leaf rust and identification of pathotypes with virulence to the resistance genes used. The aim of this work was analysis of *Puccinia triticina* populations in the Chelyabinsk region for virulence and studying the effectiveness of *Lr*-genes at the field for improving and stabilization of genetic protection from wheat leaf rust in the Southern Urals. Infection materials were collected in the experimental field of the Chelyabinsk Research Institute of Agriculture from breeding lines, commercial and perspective wheat varieties in 2014–2016. In total, 383 single pustule isolates were studied: 180 in 2014, 131 in 2015, and 72 in 2016. The *Lr24* gene was characterized as highly effective. The single isolate virulent to *TcLr19* line was revealed only in 2014. Isolates virulent to the *Lr9* gene occurred annually both on the varieties carrying this gene and those without it, and all of them were characterized by avirulence to the *Lr26* gene. According to the Nei index (N), no significant differences in virulence were revealed between Chelyabinsk populations in 2014–2016. 27 virulence phenotypes were determined using 20 *TcLr*-lines. The phenotypes TQTTR and TGTTR avirulent to lines *TcLr19*, *TcLr24*, *TcLr26* and *TcLr9*, *TcLr19*, *TcLr24*, *TcLr26*, respectively, were common in 2014–2016. The results on the effectiveness of *Lr*-genes at the seedling stage correlated with estimates for Thatcher *Lr*-lines, breeding materials and varieties with known *Lr*-genes grown at the field on the breeding nursery of the Chelyabinsk Research Institute of Agriculture. The highly effective genes *Lr24*, *Lr25*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr37* and some others were found to

have promise for use in wheat breeding in the Ural. The use of these genes and combination of these genes with non-effective ones will allow the genetic diversity of new wheat varieties to be increased and the fungus populations to be stabilized. By now, at the field conditions in the Ural region, the effective combinations of *Lr*-genes revealed are *Lr9+Lr19*, *Lr9+Lr26*, *Lr9+Lr37*, *Lr9+Lr10+Lr26*, and *Lr9+Lr26+Lr37*.

Key words: leaf rust; *Lr*-genes; common wheat; variety; virulence; resistance.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Тюнин В.А., Шрейдер Е.Р., Гуляева Е.И., Шайдаук Е.Л. Характеристика вирулентности популяций *Puccinia triticina* и перспективы использования генов *Lr24*, *Lr25*, *LrSp* в селекции яровой мягкой пшеницы на Южном Урале. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(5):523-529. DOI 10.18699/VJ17.269

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Tyunin V.A., Shreyder E.R., Gulyaeva E.I., Shaydayuk E.L. Characteristics of virulence of *Puccinia triticina* populations and the potential of the *Lr24*, *Lr25*, *LrSp* genes for spring common wheat breeding in the Southern Ural. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(5):523-529. DOI 10.18699/VJ17.269 (in Russian)

Буряя ржавчина (возбудитель *Puccinia triticina* Erikss.) – значимая болезнь пшеницы на Урале. В годы эпифитотий ее вредоносность может достигать 37 % (Тюнин, Шрейдер, 2010). В многолетних исследованиях экологии пшеницы, проведенных в Челябинском НИИ сельского хозяйства (ЧНИИСХ), установлено, что данный биотический стресс сопряжен с годами с высокими показателями гидротермических условий вегетации и проявляет себя совокупно с полеганием посевов, истеканием (энзимо-микозным и углеводно-белковым истощением) семян и другими стрессами. Их взаимодействие интегрально выражается чаще в лесостепи и предгорьях региона как экологически избыточное увлажнение пшеницы. Из-за этого ресурс влаги недостаточно используется неустойчивыми к этим стрессам сортами и снижается урожайность пшеницы.

Возделывание устойчивых сортов – экологически безопасный метод борьбы со ржавчиной. Первые устойчивые к бурой ржавчине сорта яровой пшеницы Квинта и Дуэт созданы в ЧНИИСХ в 1999–2000 гг. Детерминация признака их устойчивости была обусловлена высокоэффективным в тот период геном *Lr9*. Полученные на их основе гибриды широко использовали в последующих скрещиваниях, что обусловило широкое распространение гена *Lr9* во многих современных сортах уральской селекции (Челяба 2, Памяти Рюба, Челябинская юбилейная, Челябинская ранняя, Челябинская степная, Чебаркульская 3). Высокая концентрация сортов с геном *Lr9*, возделываемых в Уральском и Западно-Сибирском регионах Российской Федерации, привела к появлению в 2007 г. новых вирулентных рас (Мешкова и др., 2008), и к середине 2010-х гг. стала очевидна окончательная потеря эффективности данного гена.

В настоящее время в Государственном реестре селекционных достижений (2016) для выращивания в Уральском регионе рекомендуется 49 сортов яровой пшеницы. Общая доля сортов с геном *Lr9* среди них составляет 16 %, в том числе 10 % селекции ЧНИИСХ (Гуляева, 2012, 2016). Для расширения генетического разнообразия по устойчивости к бурой ржавчине в ЧНИИСХ в селекцию пшеницы привлечены новые доноры эффективной устойчивости, например линии «типа кукушки», полученные с участием *Aegilops speltoides* и несущие ген *LrSp*, а также изогенные линии сортов Thatcher и Новосибирская 67 и другой ис-

ходный материал с генами *Lr24*, *Lr25*, *Lr28*, *Lr37*, *Lr45*, *Lr47*, *Lr49*, *LrAsp5*.

Внедрение в производство новых сортов мягкой пшеницы, защищенных ранее не использованными *Lr*-генами, и увеличение посевных площадей, занятых генетически однородными сортами, могут привести к мутациям патогена по вирулентности и ускоренному изменению популяционного состава, как это произошло с сортами, защищенными геном *Lr9*. В связи с этим для успешной генетической защиты пшеницы от бурой ржавчины в Уральском регионе и своевременного выявления патотипов с вирулентностью к используемым генам устойчивости необходим постоянный мониторинг популяций *P. triticina*.

Цель настоящей работы – анализ вирулентности *P. triticina* в Челябинской области в 2014–2016 гг. и мониторинг эффективности *Lr*-генов в полевых условиях для обоснования и стабилизации генетической защиты пшеницы от бурой ржавчины на Южном Урале.

Материалы и методы

Листья пшеницы с урединопустулами собраны в 2014–2016 гг. на селекционном поле ЧНИИСХ с районированных и перспективных сортов, в разной степени пораженных бурой ржавчиной (табл. 1). В 2014 г. сборы были произведены дважды: в начале появления болезни (первая декада августа) и его массовом развитии (середина августа), в 2015–2016 гг. – только в период массового развития бурой ржавчины (середина августа).

Популяции с сухих листьев были реанимированы на восприимчивом сорте Инна и клонированы (см. табл. 1). Все изоляты тестировали на 20 почти изогенных линиях Thatcher (*TcLr*-линии). Для обозначения фенотипов использована буквенная номенклатура (Long, Kolmer, 1989), основанная на определении вирулентности к пяти группам из 20 *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*.

Размножение монопустульных изолятов и анализ вирулентности проводили с использованием методики лабораторного культивирования *P. triticina*, основанной на применении бензимидазола (Михайлова и др., 2000).

Тип реакции на заражение учитывали на восьмой день после инокуляции по шкале E.B. Mains и H.S. Jackson

Table 1. Characterization of wheat sources of the leaf rust inoculation material

Variety, line (year of release)	Year of harvest	Damage by leaf rust: type, score/percentage	Number of single-pustule isolates studied	Lr genes
Chelyaba 2 (2005)*	2014(1)**	4/20	10	<i>Lr9, Lr10</i>
	2014(2)	4/70	10	
	2015	4/100	10	
	2016	4/20	7	
Duet (2003)	2014(1)	4/5	10	<i>Lr9, Lr10</i>
	2014(2)	4/30	10	
	2015	4/50	10	
	2016	4/10	5	
Omskaya 36 (2007)	2014(1)	4/20	10	
	2014(2)	4/90	10	
	2015	4/70	10	
Pamyati Ryuba (2006)	2014(1)	4/50	10	<i>Lr9, Lr10</i>
	2015	4/90	10	
Chelyaba Early (2016)	2014(2)	4/80	10	<i>Lr9, Lr10</i>
	2015	4/90	10	
Chelyaba Yubileynaya (2010)	2015	4/90	10	<i>Lr9, Lr10</i>
	2016	3/20	5	
Erythrospermum 59 (1994)	2014(1)	4/10	10	<i>Lr10</i>
	2014(2)	4/50	10	
	2015	4/30	21	
	2016	4/10	5	
Novosibirskaya 15 (2003)	2014(1)	4/30	10	<i>Lr10</i>
	2014(2)	4/80	10	
	2016	4/80	6	
Ural'skaya kukushka (2016)	2014(2)	2/5	10	
	2015	4/20	10	
Omskaya 35 (2004)	2015	4/70	10	
Chelyaba Steppe (2011)	2014(2)	4/10	10	<i>Lr9, Lr10</i>
Chebarkul'skaya 2	2014(2)	4/90	10	
	2015	4/70	10	
Chebarkul'skaya 3	2016	4/1	14	<i>Lr9</i>
Iskra (1949)	2014(1)	4/90	10	
Izumrudnaya (1996)	2014(2)	3/10	10	<i>Lr26</i>
	2016	2/1	12	
Niva 2 (1997)	2014(2)	4/50	10	
Rossiyanka (1981)	2016	4/30	10	
Rodnik	2015	4/20	10	
	2016	4/10	8	

* Year of addition to the State Register of Protected Selection Achievements.

** Sampling of inoculation material: 1, first third of August; 2, second third of August.

(1926), где 0 – отсутствие симптомов; 0; – некрозы без пустул; 1 – очень мелкие пустулы, окруженные некрозом; 2 – пустулы среднего размера, окруженные некрозом или хлорозом; 3 – пустулы среднего размера без некроза; 4 – крупные пустулы без некроза; X – пустулы на одном и том же листе разных типов, присутствуют хлорозы и некрозы.

Для сопоставления типа реакции отрезков листьев и проростков пшеницы по два-три изолята из каждой популяции тестировали на интактных растениях. Для этого по два-три зерна каждой *TcLr*-линии сеяли в почву. 12–14-дневные проростки инокулировали суспензией возбудителя и помещали в камеру искусственного климата (Sanyo, Versatile Environmental Test Chamber) с необхо-

димыми для возбудителя бурой ржавчины условиями инкубации (температура 22 °С, влажность 75 %). Учет проводили на 10–12-й день после заражения по вышеописанной шкале Е.В. Mains и Н.С. Jackson (1926).

Статистическая обработка результатов анализа вирулентности выполнена с использованием пакета программ Virulence Analysis Tool (VAT) (Kosman et al., 2008). Для оценки различий между челябинскими популяциями в 2014–2016 гг. применяли индекс генетических расстояний Нея (N).

Для изучения эффективности *Lr*-генов в полевых условиях и мониторинга появления изолятов с новой вирулентностью изучили устойчивость изогенных линий

Thatcher, селекционного материала и сортов с известными *Lr*-генами и их комбинациями в фазе взрослых растений. Оценку проводили на селекционном поле яровой мягкой пшеницы ЧНИИСХ (лесостепь предгорий Южного Урала) на естественном инфекционном фоне бурой ржавчины. Развитие болезни во все годы исследований (2014–2016 гг.) было высоким и на восприимчивых сортах составляло 80–100 %. Степень поражения бурой ржавчиной оценивали в период максимального развития болезни по шкале R.F. Peterson с коллегами (1948), а тип реакции – по шкале E.B. Mains и H.S. Jackson (1926).

Результаты и обсуждение

Изучена вирулентность 383 монопустульных изолятов (180 – 2014 г., 131 – 2015, 72 – 2016 г.) (см. табл. 1). На стадии проростков высокоэффективным являлся ген *Lr24*. Единичный изолят, вирулентный к линии *TcLr19*, отмечен на сорте Эритроспермум 59 в 2014 г. в начале проявления бурой ржавчины (табл. 2). В последующие годы вирулентность к данному гену не выявлена. На линиях с генами *Lr1*, *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr2c*, *Lr9*, *Lr11*, *Lr15*, *Lr16*, *Lr18*, *Lr20* и *Lr26* отмечено существенное варьирование в частотах вирулентных клонов (от 0 до 100 %). Гены *Lr3a*, *Lr3bg*, *Lr3ka*, *Lr14a*, *Lr14b*, *Lr17* и *Lr30* показали абсолютную неэффективность.

Изоляты, вирулентные к *TcLr9*, встречались как на сортах-носителях данного гена, так и без него, и все они были авирулентны к *TcLr26* (см. табл. 2). Сходный состав аллелей вирулентности (17) определен у изолятов, полученных с генетически однородных сортов Памяти Рюба, Челябинская, Челябинская юбилейная, Челябинская ранняя и Чебаркульская 2 в 2014–2016 гг. и с сортов Дуэт и Челябинская 2 в 2014–2015 гг. В 2016 г. на сортах Дуэт и Челябинская 2 выявлено незначительное снижение вирулентности патогена (15 и 16 аллелей соответственно). Все изоляты *P. triticina*, выделенные с сортов с геном *Lr9*, характеризовались высоким числом аллелей вирулентности (17–15), за исключением изолятов с сорта Чебаркульская 3 (10 аллелей). Этот сорт в полевых условиях имел значительно меньшее поражение бурой ржавчиной относительно других сортов с геном *Lr9*. Вероятно, наряду с *Lr9* он имеет дополнительные гены, сочетание которых предопределяет отбор данным генотипом менее вирулентных изолятов.

Изоляты *P. triticina*, вирулентные к линии *TcLr26*, отмечены как на сортах с этим геном (Изумрудная), так и без него (Искра, Россиянка, Родник). Высокое разнообразие патогена по аллелям вирулентности наблюдали на умеренно восприимчивых сортах Родник и Эритроспермум 59 и высоковосприимчивых Омская 36 и Новосибирская 15 (см. табл. 2).

Результаты оценок отрезков листьев и интактных растений были идентичны для большинства изученных *Lr*-линий. На линиях *TcLr11* и *TcLr16* при инокуляции отдельными изолятами тип реакции на отрезках листьев был выше (3–4 балла), чем на интактных растениях (3 балла). Согласно общепринятой классификации на группы по устойчивости, тип реакции «3» относится к умеренно восприимчивому.

Сводные результаты анализа вирулентности челябинских популяций *P. triticina* в 2014–2016 гг. представлены

в табл. 3. Отмечена стабильность в частотах встречаемости клонов, вирулентных к линиям с генами *Lr1*, *Lr2b*, *Lr2c*, *Lr3a*, *Lr3ka*, *Lr3bg*, *Lr14a*, *Lr14b*, *Lr16*, *Lr17*, *Lr18*, *Lr30*, и варьирование к линиям *TcLr9*, *TcLr2a*, *TcLr11*, *TcLr15* и *TcLr26*. Согласно индексу Нея, не выявлено существенных различий между образцами челябинских популяций в 2014–2016 гг. ($N = 0.01–0.04$).

С использованием 20 *TcLr*-линий определено 27 фенотипов, среди них: 21 – в 2014 г., 6 – в 2015 г. и 8 – в 2016 г. Фенотипическое разнообразие образцов челябинских популяций в 2014 г. было значимо выше в начальный период развития бурой ржавчины (16 фенотипов), чем в период массового развития болезни (10 фенотипов). Это, вероятно, обусловлено стабилизирующим отбором конкурентоспособных рас патогена. Общими фенотипами в 2014–2016 гг. являлись TQTTR (авирулентность: *TcLr19*, *TcLr24*, *TcLr26*) и TGTTR (авирулентность: *TcLr9*, *TcLr19*, *TcLr24*, *TcLr26*); в 2014 и 2015 гг. – TQTTR, TGTTR, THTSR (авирулентность: *TcLr9*, *TcLr14b*, *TcLr19*, *TcLr24*); в 2014 и 2016 гг. – TQTTR, TGTTR, THTTR (авирулентность: *TcLr9*, *TcLr19*, *TcLr24*), TCTTR (авирулентность: *TcLr9*, *TcLr16*, *TcLr19*, *TcLr24*, *TcLr26*), TQPTR (авирулентность: *TcLr11*, *TcLr19*, *TcLr24*, *TcLr26*); в 2015 и 2016 гг. – TQTTR и TGTTR. Наиболее представленными в 2014–2015 гг. были фенотипы TQTTR (34.4 и 80.1 % соответственно), в 2016 г. – THTTR (30.6 %).

Не выявлено существенных изменений в доминирующем фенотипическом составе челябинской популяции *P. triticina* в 2014–2016 гг. Однако практически ежегодно в ней встречались оригинальные фенотипы, которые не закреплялись в популяции. Многие из них характеризовались авирулентностью к линиям с генами *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr11*, *Lr15*, *Lr16* и *Lr18*. Все эти гены относятся к группе неэффективных в защите от бурой ржавчины в России (Гуляева и др., 2015).

Полученные результаты по эффективности *Lr*-генов в фазе проростков коррелировали с оценками линий Thatcher, образцов селекционного материала и сортов с известными *Lr*-генами в полевых условиях в селекционных посевах ЧНИИСХ. Линии *TcLr1*, *TcLr2a*, *TcLr2b*, *TcLr2c*, *TcLr3a*, *TcLr3bg*, *TcLr3ka*, *TcLr9*, *TcLr10*, *TcLr11*, *TcLr13*, *TcLr14a*, *TcLr14b*, *TcLr15*, *TcLr16*, *TcLr20*, *TcLr30*, *TcLr32*, *TcLr33*, *TcLr34*, *TcLr38* имели высокую степень поражения (80–100 %); *TcLr22a* и *TcLr26* – умеренную (30–40 %); *TcLr17*, *TcLr27+31*, *TcLr29* и *TcLr37* – слабую (5–10 %). На линиях *TcLr12*, *TcLr18*, *TcLr19*, *TcLr28* пораженность не превышала 5 %, а на линиях *TcLr24* и *TcLr25* симптомов болезни не обнаружено (0 %).

По результатам полевых и лабораторных оценок, выявлена высокая эффективность гена *Lr24* в условиях Урала. Он широко распространен в американских и австралийских сортах мягкой пшеницы, но не выявлен у российских сортов (Гуляева, 2016). В настоящее время в ЧНИИСХ создан селекционный материал с этим геном (линии Ферругинеум 25754, Лютесценс 26190, Лютесценс 26263), который так же, как и изогенная линия *TcLr24*, показал иммунный тип реакции при изучении в полевых условиях в 2014–2016 гг.

Несмотря на выявление единичных изолятов, вирулентных к гену *Lr19* в фазе проростков в 2014 г., сорта и

Table 2. Frequency of *P. triticina* isolates virulent to Thatcher lines with *Lr* genes in spring common wheat varieties in the Chelyabinsk region in 2014–2016

Wheat variety	Year	Frequency of clones virulent to TcLr lines, %											
		Lr1	Lr2a	Lr2b	Lr9	Lr11	Lr14b	Lr15	Lr16	Lr18	Lr19	Lr20	Lr26
Duet	2014 (1)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	0	0	0
	2014 (2)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	0	100	0
	2015	100	100	100	100	100	100	100	100	100	0	100	0
	2016	100	0	0	100	100	100	0	100	100	0	100	0
Chelyaba 2	2014 (1)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	0	20	0
	2014 (2)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	0	100	0
	2015	100	100	100	100	100	100	100	60	100	0	100	0
	2016	100	100	100	100	0	100	100	100	100	0	100	0
ErythrospERMum 59	2014 (1)	80	70	70	60	90	60	80	100	60	10	40	0
	2014 (2)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	0	100	0
	2015	95	48	48	48	100	100	100	100	100	0	100	0
	2016	100	100	100	0	100	100	100	100	100	0	100	0
Omskaya 36	2014 (1)	90	90	100	20	100	100	90	100	70	0	0	0
	2014 (2)	100	100	100	0	100	100	100	100	100	0	30	0
	2015	100	100	100	60	100	60	100	100	100	0	100	40
Novosibirskaya 15	2014 (1)	0	0	100	0	100	100	100	100	100	0	30	0
	2014 (2)	100	100	100	100	100	100	100	100	40	0	100	0
	2016	100	0	100	0	100	100	0	100	100	0	100	0
Rodnik	2015	100	100	100	100	100	100	100	100	100	0	100	0
	2016	100	100	100	0	100	100	100	0	100	0	100	100
Izumrudnaya	2014 (2)	100	100	100	0	100	100	100	100	100	0	100	100
	2016	100	100	100	0	100	100	100	100	100	0	100	100
Niva 2	2014 (2)	80	100	100	0	100	100	100	100	0	0	80	0
Iskra	2014 (1)	100	100	100	0	80	80	100	60	80	0	100	100
Rossiyanka	2016	100	100	100	0	100	100	100	100	100	0	100	100
Chebarkul'skaya 3	2016	0	0	0	100	0	100	0	100	100	0	0	0
Ural'skaya kukushka, Omskaya 35, Chebarkul'skaya 2, Pamyati Ryuba, Chelyaba Steppe, Chelyaba Yubileynaya, Chelyaba Early		100	100	100	100	100	100	100	100	100	0	100	0

Sampling of inoculation material: 1, first third of August; 2, second third of August.

линии с этим геном в полевых условиях в 2014–2016 гг. в ЧНИИСХ в основном характеризовались определенной степенью устойчивости. Вирулентность к гену *Lr19* чаще отмечается в Поволжье, где массово возделываются сорта с этим геном, но может встречаться и в других регионах (Коваленко и др., 2012). В настоящее время для продления «полезного срока жизни» гена *Lr19* используют его сочетания, например с генами *Lr26* и *Lr37* (Сибикеев и др., 2011). Сорта яровой пшеницы Омская 37 и Омская 38, защищенные генами *Lr19* и *Lr26*, а также селекционный материал с этими генами в Челябинской области имеют высокую степень устойчивости к бурой ржавчине.

Увеличение частот изолятов, вирулентных к гену *Lr9*, несомненно, предопределяет фитопатологическую ситуацию с бурой ржавчиной в условиях Челябинской области, где последние два года (2015–2016) были эпифитотийны-

ми. В первую очередь, это связано с поражением ранее устойчивых сортов пшеницы Дуэт, Челябинская юбилейная, Челябинская степная и других широко выращиваемых в регионе, которые послужили мощными накопителями инфекции за счет направленного отбора по вирулентности. В связи с этим определенное количество селекционного материала и сортов конкурсного сортоиспытания с геном *Lr9* приходится досрочно исключать из селекционного процесса при ежегодном формировании питомников. Для стабилизации фитосанитарной ситуации в Челябинском НИИСХ приняты попытки подбора эффективных сочетаний гена *Lr9* с другими известными ювенильными генами. В полевых условиях Челябинской области в 2016 г. отмечен высокий уровень устойчивости у селекционных образцов, несущих следующие сочетания *Lr*-генов: *Lr9+Lr19* (Лютесценс 26078, Лютесценс 26080, Эритроспермум 26208),

Table 3. Frequency of *P. triticina* clones virulent to Thatcher lines with *Lr* genes in spring common wheat varieties in the Chelyabinsk region in 2014–2016

Thatcher line with an <i>Lr</i> gene	2014	2015	2016
1	91.7±2.1	99.3±0.7	80.6±4.7
2a	92.2±2	92.2±2.3	65.3±5.6
2b	98.3±1	92.2±2.3	80.6±4.7
2c	100	100	80.6±4.7
9	60±3.7	83.0±3.2	43.1±5.8
11	98.3±1	100	70.8±5.4
14b	91.1±2.1	97.2±1.4	100
15	92.8±1.9	100	65.3±5.6
16	97.8±1.1	97.2±1.4	88.9±3.7
18	76.7±3.2	100	100
19	0.6±0.6	0	0
20	66.7±3.5	100	73.6±5.2
24	0	0	0
26	11.1±2.3	2.8±1.4	41.7±5.8
3a, 3bg, 3ka, 14a, 17, 30	100	100	100

Lr9+Lr26 (Ферругинеум 25828, Эритроспермум 25826, Лютесценс 25928, Лютесценс 26122), *Lr9+Lr37* (Лютесценс 26128), *Lr24+Lr26* (Эритроспермум 25606), *Lr9+Lr10+Lr26* (новый сорт Силач, переданный на государственное сортоиспытание в 2016 г.), *Lr19+Lr26+Lr34* (Эритроспермум 25618). Наличие комбинаций данных генов у созданного селекционного материала подтверждено с помощью высокоинформативных молекулярных маркеров.

Использование молекулярных маркеров для пирамидирования генов – одно из важных преимуществ по сравнению с методами традиционной селекции. Они позволяют выявить генотипы, содержащие комбинации генов, на более ранних стадиях селекционного процесса (Леорова, 2013). В настоящее время информативные ПЦР-маркеры подобраны для более 20 *Lr*-генов. Эти маркеры широко используются в селекционных учреждениях в России и за рубежом (Гайнулин и др., 2007; Serfling et al., 2011; Давоян и др., 2014).

Наряду с донорами известных *Lr*-генов в ЧНИИСХ широко используются доноры, несущие ювенильные гены, не идентичные известным эффективным (*LrSp*, *LrAsp5*) и высокоэффективные в защите от ржавчины. Новый сорт яровой мягкой пшеницы Челябинс 75, включенный в 2012 г. в Государственный реестр селекционных достижений, а также многочисленный селекционный материал, содержащий в своем генотипе тот же неизвестный высокоэффективный ген (*LrSp*) от *Ae. speltooides*, сохраняет иммунитет к бурой ржавчине в условиях Южного Урала в течение длительного периода. Такую же реакцию имели образцы Велютинум 25758, Велютинум 25759 с геном *LrAsp5* и другие, полученные по программе КАСИБ (СИММУТ) и отобранные из материала ИЦИГ СО РАН.

Проведенные исследования показали значимость ежегодного мониторинга вирулентности гриба для осуществления успешной иммуногенетической защиты. Получен-

ные сведения о вирулентности популяций, их изменениях под влиянием выращиваемых сортов, а также эффективности *Lr*-генов и их сочетаний позволяют скорректировать направления генетической защиты в Челябинской области, целенаправленно привлекать в селекцию новые доноры и обеспечить продление срока полезной жизни для генов, утративших эффективность, но широко распространенных в отечественных сортах пшеницы. Использование молекулярных маркеров позволит более успешно реализовать стратегию эффективного пирамидирования *Lr*-генов.

Acknowledgments

The authors are indebted to Dr. Odintsova, who kindly provided kukushka-type lines, donors of the *LrSp* gene. Also, the breeding for leaf rust resistance at the Chelyabinsk Research Institute of Agriculture was successful owing to resistance sources provided by Drs. Koval' and Salina, Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk, and by CIMMYT.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Davoyan E.R., Bespalova L.A., Davoyan R.O., Zubanova Y.S., Mikhov D.S., Filobok V.A., Khudokormova J.N. Use of molecular markers in wheat breeding for resistance to leaf rust at the Lukyanenko Research Institute of Agriculture. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2014;18(4/1): 732-738. (in Russian)
- Gaynullin N.R., Lapochkina I.F., Zhemchuzhina A.I., Kiseleva M.I., Kolomiets T.M., Kovalenko E.D. Phytopathological and molecular genetic identification of leaf rust resistance genes in common wheat accessions with alien genetic material. *Genetika* = *Genetics* (Moscow). 2007;43(8):1058-1064. (in Russian)
- Gosudarstvennyy reestr selektsionnykh dostizheniy, dopushchennykh k ispolzovaniyu. Sorta rasteniy [State Register of Breeding Achievements Approved for Use. Varieties of Plants]. Moscow: Rosinformagrotekh Publ., 2016. (in Russian)

- Gul'tyaeva E.I. Genetic diversity of Russian common wheat varieties for leaf rust resistance. Doklady Rossiyskoy Akademii Selskokhozyaystvennykh Nauk = Proceedings of the Russian Academy of Agricultural Sciences. 2012;2:29-32. (in Russian)
- Gul'tyaeva E.I. Identification of leaf rust resistance genes in Russian common wheat varieties. Sbornik tezisev Vserossiyskoi konferentsii "50 let VOGiS: uspekhi i perspektivy" [Abstracts from the All-Russia conference "50th Anniversary of VOGiS: Advances and Prospects", November 8–10, 2016]. Moscow, 2016. (in Russian)
- Gul'tyaeva E.I., Shaidayuk E.L., Kazartsev I.A., Aristova M.K. Structure of Russian populations of *Puccinia triticina* Erikss. Vestnik zashchity rasteniy = Plant Protection News. 2015;85(3):5-10. (in Russian)
- Kosman E., Dinooor A., Herrmann A., Schachtel G.A. Virulence Analysis Tool (VAT), 2008.
- Kovalenko E.D., Zhemchuzhina A.I., Kiseleva M.I., Kolomiets T.M., Lapochkina I.F., Khudokormova Zh.N., Bokkel'man H. Current state of leaf rust populations and creation of a gene bank of wheat donors and sources resistant to the disease. Materialy mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii, posvyashchyonnoi 125-letiyu so dnya rozhdeniya N.I. Vavilova "Immunogeneticheskaya zashchita selskokhozyaystvennykh kultur ot boleznei: teoriya i praktika" [Proceeding of the International scientific conference dedicated to the 125th anniversary of N.I. Vavilov's birth "Immunogenetic control of crop diseases: theory and practice", July 17–21, 2012]. Bol'shie Vyazemy, Moscow oblast, 2012;69-80. (in Russian)
- Leonova I.N. Molecular markers: Implementation in crop plant breeding for identification, introgression, and gene pyramiding. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2013;17(2):314-325. (in Russian)
- Long D.L., Kolmer J.A. North American system of nomenclature for *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*. Phytopathology. 1989;79:525-529.
- Mains E.B., Jackson H.S. Physiologic specialization in the leaf rust of wheat: *Puccinia triticina* Erikss. Phytopathology. 1926;16:89-120.
- Meshkova L.V., Rosseeva L.P., Shreyder E.R., Sydorov A.V. Virulence of pathotypes of the wheat leaf rust agent to *ThLr9* in Siberia and the Urals. Vtoraya Vserossiyskaya konferentsiya "Sovremennyye problemy immuniteta rasteniy k vrednym organizmam" [Proceedings of the 2nd All-Russia conference "Current issues in plant resistance to pests", St. Petersburg, September 29–October 2, 2008]. St. Petersburg, 2008;70-73. (in Russian)
- Mikhaylova L.A., Gul'tyaeva E.I., Mironenko N.V. Methods of study of the population structure of the wheat leaf rust agent *Puccinia recondita* Rob. ex Desm. f. sp. *tritici*. Immuno-geneticheskie metody sozdaniya ustoychivyykh k vrednym organizmam sortov [Immuno-genetic methods of the development of pest-resistant varieties]. St. Petersburg, 2000. (in Russian)
- Peterson R.F., Cambell A.B., Hannah A.E. A diagrammatic scale for estimating rust intensity on leaves and stems of cereals. Can. J. Res. 1948;26:496-500.
- Serfling A., Krämer I., Lind V., Schliephake E., Ordon F. Diagnostic value of molecular markers for *Lr* genes and characterization of leaf rust resistance of German winter wheat cultivars with regard to the stability of vertical resistance. Eur. J. Plant Pathol. 2011;130(4): 559-575.
- Sibikeev S.N., Markelova T.S., Druzhin A.E., Vedeneeva M.L., Sing D. Evaluation of a set of introgressive spring bread wheat lines developed for resistance to stem rust race Ug99 + Sr24 (TTKST). Doklady Rossiyskoy Akademii Selskokhozyaystvennykh Nauk = Proceedings of the Russian Academy of Agricultural Sciences. 2001;2:3-5. (in Russian)
- Tyunin V.A., Shreyder E.R. Osobennosti tekhnologii seleksii myagkoy yarovoy pshenitsy na ustoychivost k uglevodno-belkovomu istoshcheniyu semyan i drugim stressam v usloviyakh Yuzhnogo Urala [Features of the technology of common spring wheat breeding for resistance to carbohydrate-protein depletion of seeds and other stresses in the Southern Ural environment]. Chelyabinsk, 2010. (in Russian)