

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ К БУРОЙ РЖАВЧИНЕ У НОВЫХ РОССИЙСКИХ СОРТОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

Гультияева Е.И.*, Шайдаюк Е.Л.

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений,
196608 Россия, г. Санкт-Петербург, Пушкин, ш. Подбельского, 3;

* ✉ eigulyaeva@gmail.com

Актуальность. Бурая ржавчина (возбудитель *Puccinia triticina* Erikss.) является серьезным заболеванием пшеницы во всех регионах Российской Федерации. Генетическое разнообразие выращиваемых сортов по типам устойчивости и генам, ее контролирующим, обеспечивает надежную защиту пшеницы от данного патогена. Цель работы – характеристика разнообразия новых российских сортов озимой и яровой мягкой пшеницы по генам устойчивости к бурой ржавчине (*Lr*-генам). **Материалы и методы.** Изучены 43 сорта озимой и 25 сортов яровой пшеницы, включенные в Государственный реестр селекционных достижений РФ в 2018-2020-х годах. С использованием молекулярных маркеров нами была проведена идентификация 18 *Lr*-генов: *Lr1*, *Lr3*, *Lr9*, *Lr10*, *Lr19*, *Lr20*, *Lr21*, *Lr24*, *Lr25*, *Lr26*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr34*, *Lr35*, *Lr37*, *Lr41* (39), *Lr47*, *Lr66*. Фитопатологический тест был использован для уточнения результатов молекулярного анализа. **Результаты.** У 93% изученных сортов пшеницы выявлены *Lr*-гены, которые встречались по отдельности или в разных сочетаниях. Это были высоко и частично эффективные гены *Lr24*, *Lr9* и *Lr19*; гены устойчивости взрослых растений *Lr34* и *Lr37*; малоэффективные гены *Lr1*, *Lr3*, *Lr10*, *Lr20* и *Lr26*. Впервые у сортов российской селекции идентифицирован ген *Lr24*. Яровой сорт 'Лидер 80' с *Lr24* рекомендован для возделывания в Западно-Сибирском и Восточно-Сибирском регионах. У высокоустойчивого к бурой ржавчине ярового сорта 'Силач' определено эффективное сочетание генов *Lr9+Lr26*, по отдельности не обеспечивающих устойчивости к патогену. Ген *Lr9* выявлен у озимого сорта 'Герда', рекомендуемого для возделывания в Северо-Кавказском регионе. Ранее сорта с геном *Lr9* на Северном Кавказе не выращивали. Среди сортов пшеницы, проходящих районирование, отмечается увеличение числа образцов, резистентных к бурой ржавчине, защищенных эффективным геном устойчивости взрослых растений *Lr37*. Гены *Lr19*, *Lr24*, *Lr26*, *Lr34*, *Lr37* сцеплены с эффективными *Sr*-генами *Sr25*, *Sr24*, *Sr31*, *Sr57* и *Sr38*, что дополнительно обеспечивает новым сортам пшеницы стабильную генетическую защиту от стеблевой ржавчины. **Заключение.** Полученные сведения представлений *Lr*-генов в сортах пшеницы следует учитывать в региональных селекционных программах. Своевременная смена генетически защищенных сортов позволяет стабилизировать популяционный состав фитопатогенов и снизить вероятность эпифитотий.

Ключевые слова: молекулярные маркеры, устойчивость, *Lr*-гены, *Puccinia triticina*, *Triticum aestivum*.

Для цитирования:

Гультияева Е.И., Шайдаюк Е.Л. Идентификация генов устойчивости к бурой ржавчине у новых российских сортов мягкой пшеницы. // *Биотехнология и селекция растений*. 2021;4(2):15-27. DOI: 10.30901/2658-6266-2021-2-02

Прозрачность финансовой деятельности. Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. **Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.** **Дополнительная информация.** Полные данные этой статьи доступны <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2021-2-02> **Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы. Все авторы одобрили рукопись. Конфликт интересов отсутствует.**

Благодарности: Работа выполнена в рамках государственного задания ВИЗР, проект 0665-2019-0015 «Грибы – патогены экономически значимых растений в России: разнообразие, методы идентификации и мониторинга, взаимоотношения с растениями-хозяевами».

IDENTIFICATION OF LEAF RUST RESISTANCE GENES IN THE NEW RUSSIAN VARIETIES OF COMMON WHEAT

Gulyaeva E.I.*, Shaydayuk E.L.

All-Russian Institute of Plant Protection,
3 Podbelskogo Street, St. Petersburg, Pushkin, 196608 Russia.

*  eigulyaeva@gmail.com

Background. Wheat leaf rust caused by *Puccinia triticina* Erikss. is a significant wheat disease in all regions of the Russian Federation. The genetic diversity of the cultivated wheat varieties regarding the type of resistance and genes that control it ensures reliable protection of this crop against the pathogen. The aim of this work was to characterize the diversity of new Russian varieties of winter and spring common wheat for leaf rust resistance genes (*Lr*-genes). **Materials and Methods.** The research material was represented by 43 varieties of winter and 25 of spring wheat included in the State Register of Selection Achievements of the Russian Federation in 2018-2020. **Results.** Using molecular markers, 18 *Lr* genes were identified: *Lr1*, *Lr3*, *Lr9*, *Lr10*, *Lr19*, *Lr20*, *Lr21*, *Lr24*, *Lr25*, *Lr26*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr34*, *Lr35*, *Lr37*, *Lr41* (39), *Lr47* and *Lr66*. A phytopathological test was used to clarify the results of molecular analysis. Ninety-three percent of the studied wheat varieties were found to contain *Lr* genes, either separately or in combinations. These were the highly and partially effective genes *Lr24*, *Lr9*, and *Lr19*, adult plant resistance genes *Lr34* and *Lr37*, and ineffective genes *Lr1*, *Lr3*, *Lr10*, *Lr20*, and *Lr26*. The *Lr24* gene has been identified for the first time in Russian varieties. The spring variety ‘Leader 80’, harboring this gene, is recommended for cultivation in the West Siberian and East Siberian regions. An effective combination of *Lr9* + *Lr26* genes, individually overcome by the pathogen, was determined in the spring cultivar ‘Silach’, highly resistant to leaf rust. The *Lr9* gene was found in the winter variety ‘Gerda’, which is recommended for cultivation in the North Caucasus region. Previously, the varieties with *Lr9* were not grown in the North Caucasus. An increase in the number of leaf rust resistant accessions protected by the effective adult plant resistance gene *Lr37* is noted among wheat varieties undergoing regional adaptation testing. Many of the identified *Lr* genes (*Lr19*, *Lr24*, *Lr26*, *Lr34*, *Lr37*) are linked with effective *Sr* genes (*Sr25*, *Sr24*, *Sr31*, *Sr57*, and *Sr38*), which additionally ensures stable genetic protection of wheat against stem rust. **Conclusions.** The obtained information about representation of *Lr* genes in wheat varieties should be used in regional breeding programs. A timely replacement of genetically protected varieties allows stabilizing the populational composition of the phytopathogen and reducing the likelihood of epiphytotics.

Key words: molecular markers, resistance, *Lr* genes, *Puccinia triticina*, *Triticum aestivum*.

For citation:

Gulyaeva E.I., Shaydayuk E.L. Identification of leaf rust resistance genes in the new Russian varieties of common wheat. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2021;4(2):15-27. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2021-2-o2

Financial transparency. The authors have no financial interest in the presented materials or methods.

The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work. Additional information.

Extended data is available for this paper at <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2021-2-o2> **The journal’s opinion is neutral to the presented materials, the author, and his or her employer. All authors approved the manuscript. No conflict of interest.**

ORCID ID:

Gulyaeva E.I. <https://orcid.org/0000-0001-7948-0307>

Shaydayuk E.L. <https://orcid.org/0000-0003-3266-6272>

УДК 633.11:632.938

Поступила в редакцию: 12.05.2021

Принята к публикации: 22.06.2021

Acknowledgments: The research was performed within the framework of the State Assignment to VIZR, Project No. 0665-2019-0015 “Fungal pathogens of economically significant plants in Russia: diversity, methods of identification and monitoring, relationships with host plants”.

Введение

Буряя ржавчина пшеницы (возбудитель *Puccinia triticina* Eriks.) – серьезное заболевание пшеницы во всех регионах ее возделывания (Sanin, 2012). Возделывание сортов, генетически разнообразных по типам устойчивости и генам, ее контролирующим, обеспечивает надежную защиту от данного патогена. Вертикальная (расоспецифическая) устойчивость обуславливается олигогенами. Основная ее функция – подавление первичной инфекции патогена. Горизонтальная (неспецифическая) устойчивость проявляется в уменьшении репродуктивной способности патогена и чаще всего является полигенной. Считается, что горизонтальная устойчивость сохраняется в течение более длительного времени, чем вертикальная устойчивость, поскольку популяция патогена имеет меньше шансов накопить мутации вирулентности (Дуаков, 1998).

С 2000-х годов в России наблюдается существенный прогресс в создании и внедрении в производство новых сортов пшеницы. Число озимых сортов, включенных в Государственный реестр селекционных достижений и рекомендуемых для возделывания в Российской Федерации, в 2020-х годах увеличилось в 4 раза, по сравнению с 1990-ми годами (333 сорта в 2020 году и 113 в 1996 году), а яровых в 2,5 раза (261 и 138, соответственно) (State Register, 2021). В этот же период среди сортов пшеницы, проходивших районирование, было отмечено увеличение числа форм, резистентных к бурой ржавчине (Morgounov et al., 2011; Gulyaeva, Sadovaya, 2014).

Во Всероссийском институте защиты растений (ВИЗР) с середины 1990-х годов проводятся иммуно-генетические исследования новых сортов мягкой пшеницы, включаемых в Государственный реестр селекционных достижений РФ (State Register, 2021). Показано, что в 1996 году доля высокоустойчивых сортов в Реестре составляла менее 4%. В 2005 году она выросла до 15%. В 2006-2011 годах устойчивостью к бурой ржавчине характеризовались свыше 3% озимых и 25% яровых сортов. Эта динамика сохраняется и до настоящего времени (Gulyaeva et al., 2021).

Высокий уровень генетической защиты пшеницы достигается разнообразием по генам устойчивости. В настоящее время в «Каталоге генных символов...» представлено 80 локализованных *Lr*-генов (McIntosh et al., 2020). Надо отметить, что в практической селекции из них используется лишь менее 30 процентов. Большинство каталогизированных *Lr*-генов относится к группе «ювенильных», действие которых проявляется в фазе проростков. Гены устойчивости взрослых растений (adult plant resistance genes) обеспечивают эффективность в полевых условиях на более поздних этапах онтогенеза пшеницы, например, после выхода растений в трубку. К данной группе относятся гены *Lr12*, *Lr13*, *Lr22a*, *Lr22b*, *Lr34*, *Lr35*, *Lr37*, *Lr46*, *Lr48*, *Lr67* и *Lr77*. Эффективность

большинства *Lr*-генов существенно варьирует в зависимости от вирулентности региональных популяций возбудителя.

Традиционными методами идентификации *Lr*-генов у сортов пшеницы являются: анализ родословных, который позволяет выявить использованный в скрещиваниях источник устойчивости; фитопатологический тест с помощью тест-изолятов, маркированных вирулентностью по отношению к растениям-носителям идентифицируемых генов устойчивости; гибридологический анализ. В 2000 году для идентификации генов устойчивости стали использовать молекулярные маркеры.

Особую значимость ДНК-маркеры приобрели при идентификации высоко и частично эффективных генов, определение которых с использованием фитопатологического теста затруднено из-за отсутствия в популяции патогена вирулентных изолятов. К таким генам в России относятся *Lr9*, *Lr19*, *Lr24*, *Lr25*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr41(=39)*, *Lr42*, *Lr45*, *Lr47*, *Lr50*, *Lr51* и *Lr66* (Gulyaeva et al., 2021). Для большинства этих генов подобраны высокоспецифичные ДНК-маркеры (Vida et al., 2009).

Идентификация генов устойчивости взрослых растений («возрастных» генов) с использованием традиционных фитопатологических методов также сопряжена с большими методическими трудностями. Проведение фитопатологического теста в полевых условиях ограничено аэрогенным заносом спор гриба с соседних территорий. Альтернативой является использование камер искусственного климата или теплиц, однако это требует дополнительных затрат и времени. В связи с этим, молекулярные маркеры являются основным инструментом для идентификации генов этой группы. В литературе содержится обширная информация о маркерах «возрастных» *Lr*-генов (Tomkowiak et al., 2019; Atia et al., 2021). Преимущественно это микросателлитные маркеры, которые подбирают при анализе определенных гибридных популяций, и многие из них имеют ограничение для массового скрининга. Например, микросателлитный маркер *gwm630* гена *Lr13* явился высокоинформативным при анализе инбредных популяций гибридов *TcLr13* × *Frisal* и *TcLr13* × *Thatcher* в исследованиях R. Seyfarth с соавторами (Seyfarth et al., 2000). Однако, при массовом скрининге сортов пшеницы этот маркер показал себя как неинформативный (Gregáňová et al., 2003; Tyryshkin, Kurbanova, 2009; Serfling et al., 2011, Gulyaeva, 2012). В настоящее время наиболее востребованными для скрининга пшеницы являются STS- и SCAR-маркеры «возрастных» генов *Lr21*, *Lr34*, *Lr35* и *Lr37* (Vida et al., 2009; McCallum et al., 2016).

В последнее десятилетие широкое применение в мировой селекции получила стратегия «пирамидирования»¹ генов устойчивости. Речь идет о генах, которые утратили свою эффективность. Было показано, что комбинация этих генов в одном генотипе обеспечивает повышение уровня полевой устойчивости (Dakouri et al., 2013; McCallum et al., 2016). Идентификация таких групп генов

с использованием фитопатологического теста сопряжена с методическими трудностями (из-за отсутствия нужных изолятов гриба). Молекулярные маркеры являются наиболее востребованными в этой работе.

Молекулярно-генетические исследования новых российских сортов позволяют охарактеризовать их разнообразие и оценить влияние на изменение структуры популяции патогена по вирулентности. Цель данной работы: с использованием молекулярных маркеров охарактеризовать разнообразие по генам устойчивости к бурой ржавчине (*Lr*-генам) новых сортов озимой и яровой мягкой пшеницы, рекомендуемых для возделывания в РФ в 2018-2020-х годах.

Материалы и методы

Материалом для исследований являлись 41 сорт озимой и 36 сортов яровой мягкой пшеницы, впервые включенные в Государственный реестр селекционных достижений РФ в 2018-2020-х годах (табл. 1) (State Register, 2021). Семенной материал данных образцов был любезно предоставлен региональными селекционными учреждениями РФ.

От Редактора: Стратегия выстраивания «пирамиды» – одновременный отбор и/или введение сразу нескольких генов в одно растение, что обеспечивает комплементацию малоэффективных генов. «Пирамидированием» генов в русскоязычной литературе называют процесс объединения в одном генотипе нескольких генов, контролирующих один и тот же признак (Leonova, 2013). В англоязычной литературе используют термин «стекинг» (Halpin, 2005; Singh et al., 2018). Пирамидирование и отбор, осуществляемый с помощью маркеров, могут быть представлены как пирамидирование с помощью маркеров. «Стекинг» генов может быть достигнут несколькими различными способами, и пирамидирование является одним из таких методов (Servin et al., 2004; Taverniers et al., 2008).

Editor's note: The strategy of pyramiding is the simultaneous selection and/or accumulation of multiple genes in a single plant that ensures complementation of ineffective genes. “Pyramidirovaniye” of genes in the literature in the Russian language stands for the process of combining in one genotype several genes controlling the same feature (Leonova, 2013). English literature uses the term ‘stacking’ (Halpin, 2005; Singh et al., 2018). Pyramiding and Marker Assisted Selection can be combined as Marker-Assisted Pyramiding. Gene stacking can be achieved by several different ways, and pyramiding is one of them (Servin et al., 2004; Taverniers et al., 2008)

Таблица 1. Характеристика сортов озимой и яровой мягкой пшеницы, включенных в Государственный реестр селекционных достижений в 2018-2020-х годах

Table 1. Characteristics of winter and spring common wheat varieties included in the State Register of Selection Achievements in 2018-2020

Сорт/ Variety	Год включения/ Year of inclusion	Регионы районирования/ Regions of adaptation	Идентифицированные <i>Lr</i> -гены/ Identified <i>Lr</i> -genes	Устойчивость в фазе проростков к тест-клонам*/ Resistance to test clones* at the seedling stage			Устойчивость в полевых условиях**/ Resistance in the field conditions**
				<i>kLr9</i>	<i>kLr19</i>	<i>kLr26</i>	
Озимая пшеница / Winter wheat							
‘Базис’	2018	СВ	<i>Lr34</i>	S	S	S	СУ
‘Ваня’	2018	СК	<i>Lr3, Lr26, Lr34</i>	R	R	S	СУ
‘Граф’	2018	СК, НВ	<i>Lr1, Lr10, Lr37</i>	R	R	R	У
‘Дуплет’	2018	СК	<i>Lr1, Lr26, Lr34</i>	R	R	S	СВ
‘Караван’	2018	СК	<i>Lr26</i>	R	R	S	СВ
‘Краса Дона’	2018	СК, НВ	<i>Lr1</i>	S	S	S	У
‘Степь’	2018	СК	<i>Lr26</i>	R	R	S	СУ
‘Арсенал’	2019	СК, НВ	<i>Lr34</i>	S	S	S	У
‘Базальт 2’	2019	СВ	<i>Lr3, Lr34</i>	S	S	S	В

Сорт/ Variety	Год включения/ Year of inclusion	Регионы районирования/ Regions of adaptation	Идентифицированные Lr-гены/ Identified Lr-genes	Устойчивость в фазе проростков к тест-клонам*/ Resistance to test clones* at the seedling stage			Устойчивость в полевых условиях**/ Resistance in the field conditions**
				kLr9	kLr19	kLr26	
‘Бодрый’	2019	Ц	Lr1	S	S	S	B
‘Видея’	2019	СК	Lr26	R	R	S	CB
‘Герда’	2019	СК	Lr3, Lr9	S	R	R	У
‘Донмира’	2019	СК	Lr3	S	R	S	У
‘Иридаc’	2019	СК	Lr3, Lr26	R	R	S	СУ
‘Кавалерка’	2019	СК	Lr1, Lr10	S	S	S	У
‘Корона’	2019	СК	Lr1, Lr26, Lr34	R	R	S	СУ
‘Маркиз’	2019	СК	Lr37	S	R	S	СУ
‘Собербаш’	2019	ЦЧР, СК	Lr10	S	S	S	У
‘Стать’	2019	НВ	Lr34	S	S	S	СУ
‘СТРГ 8060 15’	2019	ЦЧР	Lr1, Lr26, Lr34	R	R	R	СУ
‘Тимирязевка 150’	2019	ЦЧР, СК, НВ	Lr26	R	R	S	У
‘Фелиция’	2019	Ц	Lr3, Lr34	S	S	S	CB
‘Шеф’	2019	СК	Lr3, Lr10, Lr34	S	S	S	У
‘Этюд’	2019	СК, НВ	Lr3	S	S	S	СУ
‘Альтернатива’	2020	СВ	Lr1, Lr34	S	S	S	СУ
‘Анастасия’	2020	НВ	Lr3, Lr34	R	S	S	СУ
‘Армада’	2020	ЦЧР, СК	-	S	S	S	У
‘Ахмат’	2020	ЦЧР, СК	Lr1, Lr26	R	R	S	У
‘Барыня’	2020	СК	Lr10	R	S	R	CB
‘Былина Дона’	2020	СК	-	S	S	R	У
‘Вольница’	2020	СК	Lr1, Lr34	S	R	S	СУ
‘Вольный Дон’	2020	СК	Lr1, Lr34	S	S	S	СУ
‘Вьюга’	2020	СВ	Lr1 Lr3, Lr34	S	S	S	СУ
‘Гомер’	2020	ЦЧР, СК	Lr1, Lr37	S	S	R	У
‘Донская степь’	2020	СК, НВ	Lr3	S	S	S	СУ
‘Еланская’	2020	НВ	-	S	S	S	СУ
‘Еланчик’	2020	СК, НВ	Lr3	S	R	R	У
‘Жаворонок’	2020	СК, НВ	Lr34	S	S	S	У
‘Паритет’	2020	НВ	Lr10, Lr26, Lr34	R	R	S	У
‘Секлетия’	2020	СК, НВ	Lr34	R	S	S	СУ
‘Цефей’	2020	ЦЧР	Lr1, Lr3	S	S	S	СУ
Яровая пшеница / Spring wheat							
‘Алабуга’	2018	У	Lr26	R	R	S	B
‘Тюменская юбилейная’	2018	ЗС	Lr1	S	S	S	B
‘Аль варис’	2019	СВ	Lr26	R	R	S	B
‘Бурлак’	2019	Ц	Lr3, Lr10	S	R	R	B
‘Гренада’	2019	У	Lr26	R	R	S	B
‘Каменка’	2019	Ц, ВВ	Lr10	S	S	S	CB

Сорт/ Variety	Год включения/ Year of inclusion	Регионы районирования/ Regions of adaptation	Идентифицированные Lr-гены/ Identified Lr-genes	Устойчивость в фазе проростков к тест-клонам*/ Resistance to test clones* at the seedling stage			Устойчивость в полевых условиях**/ Resistance in the field conditions**
				kLr9	kLr19	kLr26	
‘Корнетто’	2019	ЦЧР	-	S	S	S	CB
‘Нерда’	2019	У	Lr3, Lr26	R	R	R	B
‘Новосибирская 16’	2019	BC	Lr1, Lr3, Lr10	S	S	S	B
‘Одета’	2019	Ц, ЦЧР	Lr37	S	S	S	CB
‘Омская 42’	2019	ЗС	Lr10, Lr34	S	S	S	CB
‘Омская юбилейная’	2019	ЗС	Lr3, Lr10, Lr34	S	S	S	B
‘Старт’	2019	BC	Lr9, Lr34	S	R	R	CB
‘Столыпинская 2’	2019	У, ЗС	Lr3, Lr34	S	R	S	CB
‘Уралосибирская 2’	2019	У, ЗС	Lr26	R	R	S	B
‘Экада 214’	2019	CB	Lr20	S	R	R	CB
‘Александрит’	2020	CB, НВ, У	Lr19	R	S	R	У
‘Арсея’	2020	Ц	Lr1	R	S	R	B
‘Гаренда’	2020	Ц	Lr37	S	S	S	СУ
‘Зауральская волна’	2020	У, ЗС	Lr3, Lr10, Lr19	R	R	R	У
‘Зауральская жемчужина’	2020	У	Lr1, Lr3, Lr10, Lr26	R	R	S	B
‘Зауральский янтарь’	2020	У	Lr3, Lr10, Lr26	R	R	S	B
‘Изера’	2020	Ц	Lr34	S	S	S	B
‘Ирень 2’	2020	ВВ, ЗС	-	S	S	S	B
‘Калинка’	2020	У	Lr10	S	S	S	B
‘Краснозёрка’	2020	У	Lr1, Lr3, Lr26	R	R	S	B
‘Лидер 80’	2020	ЗС, BC	Lr24	R	R	R	CB
‘Лютеция’	2020	У	Lr1, Lr10, Lr26	R	R	R	У
‘ОМГАУ 100’	2020	ЗС	Lr10, Lr26	R	R	S	B
‘Оренбургская юбилейная’	2020	У	Lr3	R	S	S	B
‘Радмира’	2020	ВВ	Lr3	S	S	S	СУ
‘Силач’	2020	У	Lr9, Lr10, Lr26	R	R	R	У
‘Тарская 12’	2020	ЗС	Lr10	S	S	S	B
‘Токката’	2020	Ц, ЦЧР	Lr37	S	R	S	CB
‘Флоренс’	2020	Ц		S	S	S	CB
‘Экстра’	2020	ВВ, У, ЗС	Lr3, Lr10	S	S	S	B

Примечания. Регионы: СЗ – Северо-Западный, Ц – Центральный, ЦЧР – Центрально-Черноземный, ВВ – Волго-Вятский, CB – Средневолжский, СК – Северокавказский, У – Уральский, ЗС – Западно-Сибирский, BC – Восточно-Сибирский.

* R – реакция устойчивости (тип реакции от 0 до 2 баллов), S – восприимчивость (баллы: 3, 4, X).

** Согласно характеристике, представленной в Государственном реестре: У – устойчивый, СУ – среднеустойчивый, CB – средневосприимчивый, B – восприимчивый.

Notes. Regions: СЗ – Northwestern, Ц – Central, ЦЧР – Central Chernozem, ВВ – Volgo-Vyatka, CB – Middle Volga, СК – North Caucasian, У – Urals, ЗС – West Siberian, BC – East Siberian.

* R – resistance response (scores 0, 1, 2), S – susceptibility (scores 3, 4, X).

** According to the characteristics submitted to the State Register: У – resistant, СУ – moderately resistant, CB – moderately susceptible, B – susceptible.

ДНК выделяли из листьев 5-дневных проростков микрометодом (Dorokhov, Kloke, 1997). Из каждого сорта брали по три растения. Концентрация ДНК в рабочем растворе составляла 50-100 нг/мкл. Полимеразную цепную реакцию проводили в амплификаторе MyCycler Thermal Cycler (BioRad, США) по протоколам, предложенным разработчиками праймеров. Амплифицированные фрагменты разделяли электрофорезом в 1,5% агарозном геле в 1× TBE-буфере, гели окрашивали бромистым

этидием и фотографировали в ультрафиолетовом свете.

Идентификацию высокоэффективных генов *Lr24*, *Lr25*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr41* (39), *Lr47*, *Lr66*; частично эффективных генов *Lr9*, *Lr19*; генов устойчивости взрослых растений *Lr21*, *Lr34*, *Lr35*, *Lr37*; малоэффективных генов *Lr1*, *Lr3*, *Lr10*, *Lr20* и *Lr26* проводили с использованием молекулярных маркеров. Информация о маркерах представлена в таблице 2.

Таблица 2. Молекулярные маркеры, использованные для идентификации *Lr*-генов

Table 2. Molecular markers used for the identification of *Lr* genes

<i>Lr</i> -ген/ <i>Lr</i> -gene	Маркеры/ Markers	Источник/ Source
<i>Lr1</i>	WR003 F/R	Qiu et al., 2007
<i>Lr3a</i>	Xmwg798	Herrera-Foessel et al., 2007
<i>Lr9</i>	SCS5 ₅₅₀	Gupta et al., 2005
<i>Lr10</i>	F1.2245/Lr10-6/r2 Lrk10-6 Lrk10-D	Chelkowski et al., 2003 Schachermayr et al., 1997
<i>Lr19</i>	SCS265	Gupta et al., 2006
<i>Lr20</i>	STS638	Neu et al., 2002
<i>Lr21</i>	Lr21F/R	Fritz, 2019
<i>Lr24</i>	Sr24#50 и Sr24#12	Mago et al., 2005
<i>Lr25</i>	Lr25F20/R19	Procnier et al., 1995
<i>Lr26</i>	SCM9	Weng et al., 2007
<i>Lr28</i>	SCS421 ₅₇₀	Cherukuri et al., 2005
<i>Lr29</i>	Lr29F24	Procnier et al., 1995
<i>Lr34</i>	csLV34	Lagudah et al., 2006
<i>Lr35</i>	Sr39#22r,	Mago et al., 2009
<i>Lr37</i>	Ventriup/LN2	Helguera et al., 2003
<i>Lr41</i> (39)	GDM35	Pestsova et al., 2000; Brown-Guedira, Singh, 2019
<i>Lr47</i>	PS10	Helguera et al., 2000
<i>Lr66</i>	S13-R16	Marais et al., 2010

Для уточнения результатов ПЦР-анализа провели фитопатологический тест с использованием клонов гриба, маркированных вирулентностью по отношению к растениям-носителям генов *Lr9* (*kLr9*), *Lr19* (*kLr19*) и *Lr26* (*kLr26*). Тест-клоны были авирулентными по отношению к линиям Thatcher (*TcLr*) с генами *Lr24*, *Lr23*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr39*(=41), *Lr45*, *Lr47*, *Lr51*, *Lr53* и вирулентными по отношению к носителям генов *Lr1*, *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr2c* *Lr3a*, *Lr3bg*, *Lr3ka*, *Lr10*, *Lr14a*, *Lr15*, *Lr16*, *Lr17*, *Lr18*, *Lr20*, *Lr30*. Клон гриба *kLr9* был вирулентным по отношению к линии *TcLr9* и авирулентным по отношению к *TcLr19*, *TcLr26*; клон *kLr19* вирулентным по отношению к *TcLr19* и авирулентным в отношении *TcLr9*, *TcLr26*; клон гриба *kLr26* был вирулентным по отношению к *TcLr26*, авиру-

лентным в отношении линии *TcLr9*, *TcLr19*.

Десяти-двенадцати дневные проростки (фаза первого листа), выращенные в сосудах с почвой, опрыскивали суспензией спор каждого тест-клона. Для приготовления суспензии использовали иммерсионную жидкость 3М™ Novoc™ 7100 (3М™). Растения после заражения помещали в светоустановку с контролируемыми условиями (температура 20°C, фотопериод 16 ч день/6 ч ночь). Тип реакции пшеницы определяли по шкале E.V. Mains, H.S. Jackson (McIntosh et al., 1995), где: 0 – отсутствие симптомов; 0 – некрозы без пустул; 1 – очень мелкие пустулы, окруженные некрозом; 2 – пустулы среднего размера, окруженные некрозом или хлорозом; 3 – пустулы среднего размера без некроза, 4 – крупные пустулы

без некроза, X – пустулы на одном и том же листе разных типов, присутствуют хлорозы и некрозы. Растения, поражение которых составляло 0-2 балла, относили к устойчивым (R), а 3, 4 и X баллов – к восприимчивым (S).

Результаты и обсуждение

С использованием молекулярных маркеров у 77 новых сортов мягкой пшеницы, рекомендуемых к возделыванию в РФ в 2018-2020-х годах, провели идентификацию восемнадцати генов устойчивости к бурой ржавчине. В изученном материале выявлено десять *Lr*-генов, в том числе высоко и частично эффективные гены *Lr9*, *Lr19* и *Lr24*, гены устойчивости взрослых растений *Lr34* и *Lr37* и малоэффективные гены *Lr1*, *Lr3*, *Lr10*, *Lr20* и *Lr26*.

Ген *Lr24* идентифицирован у ярового сорта 'Лидер 80'. Источником участка хромосомы с этим геном в геноме мягкой пшеницы является *Agropyron elongatum* (Host) Beauvois (= *Thinopyrum (Th) ponticum* (Podp.) Barkworth & Dewey). В этом же участке находится ген *Sr24*, высокоэффективный в защите от стеблевой ржавчины. В Государственном сортоиспытании 'Лидер 80' характеризовался групповой устойчивостью к бурой и стеблевой ржавчине, мучнистой росе, имел хорошие хлебопекарные качества и высокую урожайность (State Register, 2021). До 2020-х годов в Реестре было три сорта с геном *Lr24*, но все они были иностранного происхождения: 'Kanyuk' (+IAL.IRS+*Lr20*) (SECOBRA Recherches S.A.S.), 'KWS Akvilon', 'KWS Sunset' (KWS LOCHOW GmbH) (Gulyaeva et al., 2021). Таким образом, 'Лидер 80' – это первый российский сорт с геном *Lr24*. Данный сорт получен индивидуальным отбором из сорта 'ШТРУ/Р-29' германской селекции и рекомендован для возделывания в Западно-Сибирском и Восточно-Сибирском регионах.

Частично эффективный ген *Lr9* выявлен у озимого сорта 'Герда', рекомендуемого для возделывания в Северо-Кавказском регионе и яровых сортов 'Старт' и 'Силач', рекомендуемых для Восточно-Сибирского и Уральского регионов соответственно. 'Герда' – первый озимый сорт с геном *Lr9*, рекомендуемый для возделывания на Северном Кавказе. До 2020-х годов озимые сорта с геном *Lr9* ('Сплав', 'Немчиновская 24', 'Немчиновская 17') возделывали только в центрально-европейской части России (Центральный, Центрально-Черноземный, Северо-Западный регионы), а яровые – в западно-азиатской (Уральский, Западно-Сибирский, Восточно-Сибирский регионы). Наряду с геном *Lr9* у сорта 'Герда' определен малоэффективный ген *Lr3*, у сорта 'Старт' – ген устойчивости взрослых растений *Lr34*, у сорта 'Силач' – малоэффективные гены *Lr26* и *Lr10*. В фитопатологическом тесте сорта 'Герда' и 'Старт' показали реакцию восприимчивости при инокуляции тест-клоном *kLr9* и устойчивость к другим клонам (*kLr19*, *kLr26*), что подтверждает наличие у них гена *Lr9*. Сорт 'Силач' был устойчив ко всем клонам. Обусловлено это тем, что в российских популяциях патогена отсутствуют изо-

ляты, одновременно устойчивые к действию генов *Lr9* и *Lr26*, соответственно «пирамидирование» данных генов является эффективным. В то же время такого эффекта не наблюдается при сочетании гена *Lr9* с другими малоэффективными генами (*Lr1*, *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr2c*, *Lr3a*, *Lr3bg*, *Lr3ka*, *Lr10*, *Lr14a*, *Lr14b*, *Lr20*, *Lr30* и др.) (Gulyaeva et al., 2021).

Ген *Lr9* перенесен в мягкую пшеницу от *Aegilops umbellulata* Zhuk. (McIntosh et al., 1995) и долгое время сохранял высокую эффективность в России. Первые изоляты, устойчивые к действию гена *Lr9*, были отмечены в Западной Сибири и на Урале в 2008 году (Meshkova et al., 2012), и далее их частота стала стремительно нарастать. Обусловлено это широким возделыванием яровых сортов с *Lr9* в этих регионах. В европейской части России устойчивость к действию гена *Lr9* впервые отмечена в 2013 году. Однако, в отличие от западно-азиатских регионов, существенной динамики ее нарастания в последующий период не выявлено (Gulyaeva et al., 2021). На Северном Кавказе ген *Lr9* остается высокоэффективным по настоящее время (Agarova et al., 2020).

Частично эффективный ген *Lr19* идентифицирован у двух яровых сортов 'Александрит' и 'Зауральская волна', рекомендуемых для возделывания в Уральском регионе. Дополнительно у сорта 'Зауральская волна' выявлены малоэффективные гены *Lr3* и *Lr10*. Данные молекулярно-биологического анализа согласуются с фитопатологическим тестом. Оба сорта были восприимчивы к тест-клону, устойчивому к действию гена *Lr19*, и устойчивы к другим используемым клонам. Сегмент хромосомы с геном *Lr19* передан мягкой пшенице от *Agropyron elongatum*. В этом же сегменте находится ген *Sr25* – высокоэффективный в защите от стеблевой ржавчины. Ген *Lr19* широко распространен в сортах пшеницы, возделываемых в Поволжье. Их начали возделывать с конца 1980-х годов, а в середине 1990-х годов защитный эффект гена *Lr19* был преодолен (Sibikeev et al., 2007). В 2000-х годах степень вирулентности патогена, то есть устойчивости к защитной реакции растений-носителей *Lr19*, значимо увеличилась не только в Поволжье, но и в других регионах России (Центральном, Центрально-черноземном, Уральском, Западно-Сибирском) (Gulyaeva et al., 2009; Zhemchuzhina, Kurkova, 2010; Gulyaeva et al., 2020). При этом в 2010-х годах повсеместно наблюдается тенденция к ее снижению (Gulyaeva et al., 2020).

Продление срока «полезной жизни» гена *Lr19* может быть обеспечено эффективным «пирамидированием» с другими малоэффективными генами. (Sibikeev et al., 2011). Подтверждением этого являются устойчивые к бурой ржавчине яровые сорта 'Омская 37', 'Омская 38' и 'Омская 41' (*Lr19* + *Lr26*), сорт 'Тулайковская 108' (*Lr19* + дополнительный, не идентифицированный ген от сорта 'Тулайковская белозерная'), сорт 'Лебедушка' (*Lr19* + *Lr6Agi*) (Sibikeev et al., 2017).

Согласно характеристике, представленной в Госу-

дарственном реестре селекционных достижений (State Register, 2021), большинство новых озимых сортов (83%) характеризуются полевой устойчивостью к бурой ржавчине (см. табл. 1). Фитопатологический скрининг в фазе проростков показал, что тип их реакции к бурой ржавчине варьировал от устойчивого (R) до восприимчивого (S), в зависимости от используемого клона (см. табл. 1). Это указывает на отсутствие у данных сортов высокоэффективных «ювенильных» *Lr*-генов.

В результате молекулярно-генетического анализа у озимых и яровых сортов пшеницы не выявлено эффективных генов устойчивости взрослых растений *Lr21* и *Lr35*, но определена высокая представленность генов *Lr37* и *Lr34*. Ген *Lr37* идентифицирован у озимых сортов ‘Маркиз’, ‘Гомер’, ‘Граф’ и яровых ‘Одета’, ‘Гаренда’, ‘Токката’. У сорта ‘Маркиз’ дополнительно определен малоэффективный ген *Lr1*, а у сорта ‘Гомер’ – два гена: *Lr1* и *Lr10*. До 2018 года в Реестре (State Register, 2021) было только два озимых сорта с геном *Lr37* (‘Сварог’ и ‘Морозко’ (+*Lr1*)). Все озимые сорта с геном *Lr37* созданы в Национальном центре зерна имени П.П. Лукьяненко и рекомендованы для возделывания в Северо-Кавказском регионе. Яровые сорта с геном *Lr37* преимущественно относятся к результатам зарубежной селекции.

Участок хромосомы с геном *Lr37* передан мягкой пшенице от *Triticum ventricosum* Ces. (= *Aegilops ventricosa* Tausch.). В этой транслокации также находятся гены устойчивости к стеблевой (*Sr38*) и желтой (*Yr17*) ржавчине, ген устойчивости к церкоспореллезной корневой гнили *Pch2* и ген устойчивости к злаковой цистообразующей нематоды *Cre5* (McIntosh et al., 1995). В середине 2000-х годов ген утратил эффективность в Западной Европе в связи с массовым выращиванием сортов-носителей данного гена (Serfling et al., 2011). В России эффективность *Lr37* варьирует в разных регионах от высокой до умеренной (Plotnikova, Shtubey, 2012; Sochalova, Likhenko, 2016).

Ген *Lr34* идентифицирован у 44% озимых сортов и 10% яровых. Он встречался по отдельности, либо в сочетании с малоэффективными генами *Lr1*, *Lr3*, *Lr10* и *Lr26* (табл. 1). Ген *Lr34* находится в одном кластере с генами устойчивости к мучнистой росе (*Pm38*), стеблевой (*Sr57*) и желтой ржавчине (*Yr18*). Он относится к группе генов, обеспечивающих устойчивость как качественного, так и количественного проявления (то есть частичную устойчивость или, иначе, устойчивость по типу медленного развития – *slow rusting*) (McIntosh et al., 1995). Этот тип устойчивости характеризуется более

длительным латентным периодом, уменьшением числа пустул на единицу поверхности листа, количества спор в пустуле и их размера. Ген утратил свою эффективность в России в 1980-х годах. Обеспечено это широким возделыванием сортов с *Lr34*, в частности сорта ‘Безостая 1’. Последующая гибридизация с использованием сорта ‘Безостая 1’ предопределила широкое распространение гена *Lr34* в современных сортах.

Наряду с геном *Lr34*, у изученных озимых и яровых сортов широко представлены малоэффективные «ювенильные» гены *Lr1*, *Lr3*, *Lr10* и *Lr26* (см. табл. 1). Они идентифицированы у сортов по одному или в сочетаниях. В литературе имеется информация, что комбинация гена *Lr34* с генами «возрастной» и «ювенильной» устойчивости обеспечивает аддитивный эффект, способствующий длительной полевой устойчивости сортов (Singh, Trethowan, 2007). А. Dakouri с соавторами (Dakouri et al., 2013) показали, что образцы пшеницы, несущие три и более малоэффективных «ювенильных» генов (*Lr1*, *Lr3*, *Lr10*, *Lr20*, *Lr26*), имели более высокий уровень устойчивости в полевых условиях по сравнению с сортами, имеющими один или два из этих генов. Дополнительное присутствие гена *Lr34* усиливало эффект этих «ювенильных» генов.

Проведенный молекулярно-генетический анализ позволил охарактеризовать разнообразие новых российских сортов по *Lr*-генам. У 93% изученных сортов определены маркеры идентифицируемых генов по отдельности или в различных сочетаниях (табл. 3). Результаты изучения новых районированных сортов указывают на значительные успехи в селекции мягкой пшеницы на устойчивость к бурой ржавчине в России. Многие идентифицированные *Lr*-гены (*Lr19*, *Lr24*, *Lr26*, *Lr34*, *Lr37*) сцеплены с эффективными *Sr*-генами – *Sr25*, *Sr24*, *Sr31*, *Sr57* и *Sr38*, что дополнительно обеспечивает стабильную генетическую защиту пшеницы от стеблевой ржавчины. Проведенный анализ наглядно демонстрирует значимость генетического скрининга *Lr*-генов у новых сортов пшеницы и необходимость использования этой информации в региональных селекционных программах. Использование ДНК-маркеров значительно ускоряет и упрощает процесс идентификации *Lr*-генов, позволяет выявить гены, не выявляемые иными методами. Однако, для корректной интерпретации результатов молекулярно-биологического скрининга необходим комплексный подход в изучении материала, который кроме ПЦР-анализа должен включать фитопатологические методы.

Таблица 3. Представленность *Lr*-генов у сортов мягкой пшеницы, включенных в Государственный реестр селекционных достижений в 2018-2020-х годах.

Table 3. Representation of *Lr* genes in common wheat varieties included in the State Register of Selection Achievements in 2018-2020

<i>Lr</i> -гены и их сочетания в сортах мягкой пшеницы/ <i>Lr</i> genes and their combinations in common wheat varieties	Доля сортов, %/ Cultivar fraction, %
Высоко и частично эффективные гены и их комбинации с другими генами у сортов пшеницы Highly and partially effective genes and their combinations with other genes in wheat varieties	
<i>Lr24</i>	1
<i>Lr19</i>	1
<i>Lr3, Lr9</i>	1
<i>Lr9, Lr34</i>	1
<i>Lr9, Lr10, Lr26</i>	1
<i>Lr3, Lr10, Lr19</i>	1
Гены устойчивости взрослых растений и их комбинации с другими генами у сортов пшеницы Adult plant resistance genes and their combinations with other genes in wheat varieties	
<i>Lr34</i>	8
<i>Lr37</i>	5
<i>Lr1, Lr34</i>	4
<i>Lr1, Lr37</i>	1
<i>Lr3, Lr34</i>	5
<i>Lr10, Lr34</i>	1
<i>Lr1, Lr3, Lr34</i>	1
<i>Lr1, Lr26, Lr34</i>	4
<i>Lr1, Lr10, Lr37</i>	1
<i>Lr3, Lr10, Lr34</i>	3
<i>Lr3, Lr26, Lr34</i>	1
<i>Lr10, Lr26, Lr34</i>	1
Малоэффективные гены и их комбинации у сортов пшеницы Ineffective genes and their combinations in wheat cultivars	
<i>Lr1</i>	5
<i>Lr3</i>	8
<i>Lr10</i>	6
<i>Lr20</i>	1
<i>Lr26</i>	10
<i>Lr1, Lr10</i>	1
<i>Lr1, Lr3</i>	1
<i>Lr1, Lr26</i>	1
<i>Lr3, Lr10</i>	3
<i>Lr3, Lr26</i>	3
<i>Lr10, Lr26</i>	1
<i>Lr1, Lr3, Lr10</i>	1
<i>Lr1, Lr3, Lr26</i>	1
<i>Lr1, Lr10, Lr26</i>	1
<i>Lr3, Lr10, Lr26</i>	1
<i>Lr1, Lr3, Lr10, Lr26</i>	1

Заключение

Оценено генетическое разнообразие современных российских сортов мягкой пшеницы, впервые рекомендуемых к возделыванию в РФ в 2018-2020-х годах, по устойчивости к возбудителю бурой ржавчины. С 2005 года сохраняется тенденция увеличения доли устойчивых к бурой ржавчине сортов озимой и яровой пшеницы в процессе районирования. В результате молекулярно-генетического анализа у 93% изученных сортов пшеницы выявлены маркеры идентифицируемых *Lr*-генов по отдельности и в разных сочетаниях. Выделены высокоустойчивые яровые сорта, защищенные геном *Lr24* ('Лидер 80') и эффективным сочетанием частично эффективных генов *Lr9+Lr26* ('Силач'). В процессе районирования возрастает число сортов, защищенных эффективным геном устойчивости взрослых растений *Lr37*. Полученные сведения популяционных исследований о представленности *Lr*-генов в сортах пшеницы следует учитывать в региональных селекционных программах. Своевременная смена генетически защищенных сортов позволяет снизить вероятность эпифитотий и стабилизировать популяционный состав фитопатогенов.

References/Литература

- Agapova V.D., Vaganova O.F., Volkova G.V. The efficiency of juvenile genes of orange leaf rust resistance of winter wheat during the germinal phase in the climate of the Russian South. *International Research Journal*. 2020;8(98):163-167. [in Russian] (Агапова В.Д., Ваганова О.Ф., Волкова Г.В. Эффективность ювенильных генов устойчивости к возбудителю бурой ржавчины озимой пшеницы в фазу проростков в условиях юга России. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2020;8(98):163-167). DOI: 10.23670/IRJ.2020.98.8.023
- Atia M.A.M., El-Khateeb E.A., Abd El-Maksoud R.M., Abou-Zeid M.A., Salah A., Abdel-Hamid A.M.E. Mining of leaf rust resistance genes content in Egyptian bread wheat collection. *Plants*. 2021;10(7):1378. DOI: 10.3390/plants10071378
- Brown-Guedira G., Sing S. Leaf Rust Resistance Gene *Lr39*. *MasWheat. Marker Assisted Selection in Wheat*. 2019. Available from: <https://maswheat.ucdavis.edu/protocols/Lr39> [accessed on 10 May 2021].
- Chelkowski J., Golka L., Stepien L. Application of STS markers for leaf rust resistance genes in near-isogenic lines of spring wheat cv. Thatcher. *Journal of Applied Genetics*. 2003;44:323-338.
- Cherukuri D.P., Gupta S.K., Charpe A., Koul S., Prabhu K.V., Singh R.B., Haq Q.M.R. Molecular mapping of *Aegilops speltoides* derived leaf rust resistance gene *Lr28* in wheat. *Euphytica*. 2005;143:19-26. DOI: 10.1007/s10681-005-1680-6
- Dakouri A., McCallum B.D., Radovanovic N., Cloutier S. Molecular and phenotypic characterization of seedling and adult plant leaf rust resistance in a world wheat collection. *Molecular Breeding*. 2013;32:663-677. DOI: 10.1007/s11032-013-9899-8
- Dorokhov D.B., Kloke E. A rapid and economical technology of RAPD analysis of plant genomes. *Russian Journal of Genetics*. 1997;33(4):358-365. [in Russian] (Дорохов Д.Б., Клоке Э. Быстрая и экономичная технология RAPD анализа растительных геномов. *Генетика*. 33(4):443-450).
- Dyakov Yu.T. Population biology of phytopathogenic fungi (Populyatsionnaya biologiya fitopatogennykh gribov). Moscow: "Muravey" Publishing House; 1998. [in Russian] (Дьяков Ю.Т. Популяционная биология фитопатогенных грибов. Москва: Издательский дом «Муравей»; 1998).
- Fritz A. Leaf Rust Resistance Gene *Lr21*. *Marker Assisted Selection in Wheat (MasWheat)*. 2019. Available from: <http://maswheat.ucdavis.edu/protocols/Lr21> [accessed on 10 May 2021].
- Gregánová Ž., Kraic J., Gálová Z. Diagnostic of wheat leaf rust resistance genes by DNA markers and their application in MAS. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*. 2003;39:127-129. DOI: 10.17221/3730-CJGPB
- Gulyaeva E.I. Methods for identification of wheat leaf rust resistance genes using DNA markers and characterization of the efficiency of *Lr* genes (Metody identifikatsii genov ustoychivosti pshenitsy k buroy rzhavchine s ispolzovaniyem DNK-markerov i kharakteristiki effektivnosti *Lr*-genov). St. Petersburg; 2012. [in Russian] (Гуляева Е.И. Методы идентификации генов устойчивости пшеницы к бурой ржавчине с использованием ДНК-маркеров и характеристика эффективности *Lr*-генов. Санкт-Петербург; 2012).
- Gulyaeva E.I., Baranova O.A., Dmitriev A.P.V. Virulence and population structure of *Puccinia triticina* in Russian Federation in 2007. *Plant Protection News*. 2009;4:33-38. [in Russian] (Гуляева Е.И., Баранова О.А., Дмитриев А.П. Вирулентность и структура популяций *Puccinia triticina* в Российской Федерации в 2007 году. *Вестник защиты растений*. 2009;4:33-38).
- Gulyaeva E.I., Sadovaya A.S. Breeding of common wheat for resistance to brown rust of wheat in Russia. *Plant Protection and Quarantine*. 2014;10:24-26. [in Russian] (Гуляева Е.И., Садовая А.С. Селекция на устойчивость к бурой ржавчине в России. *Защита и карантин растений*. 2014;10:24-26).
- Gulyaeva E.I., Shaydayuk E.L., Gannibal Ph.B. Leaf rust resistance genes in wheat cultivars registered in Russia and their influence on adaptation processes in pathogen populations. *Agriculture*. 2021;11(4):319. DOI: 10.3390/agriculture11040319
- Gulyaeva E.I., Shaydayuk E.L., Kosman E.G. Regional and temporal differentiation of virulence phenotypes of *Puccinia triticina* from common wheat in Russia during the period 2001-2018. *Plant Pathology*. 2020;69(5):860-871. DOI: 10.1111/ppa.13174
- Gupta S.K., Charpe A., Koul S., Prabhu K.V., Haq Q.M.R. Affiliations expand development and validation of molecular markers linked to an *Aegilops umbellulata*-derived leaf-rust-resistance gene, *Lr9*, for marker-assisted selection in bread wheat. *Genome*. 2005;48(5):823-830. DOI: 10.1139/g05-051
- Gupta S.K., Charpe A., Prabhu K.W., Haque O.M.R. Identification and validation of molecular markers linked to the leaf rust resistance gene *Lr19* in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*. 2006;113(6):1027-1036. DOI: 10.1007/s00122-006-0362-7
- Halpin C. Gene stacking in transgenic plants – the challenge for 21st century plant biotechnology. *Plant Biotechnology Journal*. 2005;3:141-155. doi: 10.1111/j.1467-7652.2004.00113.x
- Helguera M., Khan I.A., Dubcovsky J. Development of PCR markers for wheat leaf rust resistance gene *Lr47*. *Theoretical and Applied Genetics*. 2000;101: 625-631. DOI: 10.1007/s001220051524
- Helguera M., Khan I.A., Kolmer J., Lijavetzky D., Zhong-qi L., Dubcovsky J. PCR assays for the *Lr37–Yr17–Sr38* cluster of rust resistance genes and their use to develop isogenic hard red spring wheat lines. *Crop Science*. 2003;43(5):1839-1847. DOI: 10.2135/cropsci2003.1839
- Herrera-Foessel S., Singh R.P., Huerta-Espino J., William M., Rosewarne G., Djurle A., Yuen J. Identification and mapping of *Lr3* and a linked leaf rust resistance gene in durum wheat. *Crop Science*. 2007;47(4):1459-1466. DOI: 10.2135/cropsci2006.10.0663
- Lagudah E.S., McFadden H., Singh R.P., Huerta-Espino J. Bariana H.S., Spielmeier W. Molecular genetic characterization of the *Lr34/Yr18* slow rusting resistance gene region in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*. 2006;114:21-30. DOI: 10.1007/s00122-006-0406-z
- Mago R., Bariana H.S., Dundas I.S. Development of PCR markers for the selection of wheat stem rust resistance genes *Sr24* and *Sr26* in diverse wheat germplasm. *Theoretical and Applied Genetics*. 2005;111(3):496-504. DOI: 10.1007/s00122-005-2039-z
- Mago R., Zhang P., Bariana H.S., Verlin U.K., Ellis J.G., Dundas I.S. Development of wheat lines carrying stem rust resistance gene *Sr39* with reduced *Aegilops speltoides* chromatin and simple PCR markers for marker-assisted selection. *Theoretical and Applied Genetics*. 2009;119(8):1441-50. DOI: 10.1007/s00122-009-1146-7
- Marais G.F., Bekker T.A., Eksteen A., McCallum B., Fetch T., Marais A.S. Attempts to remove gametocidal genes co-transferred to common wheat with rust resistance from *Aegilops speltoides*.

- Euphytica* 2010;171(1):71-85. DOI: 10.1007/s10681-009-9996-2
- McCallum B.D., Hiebert C.W., Cloutier S., Bakkeren G., Rosa S.B., Humphreys D.G., Marais J.F., McCartney C.A., Panwar V., Rampitsch C., Saville B.J., Wang X. A review of wheat leaf rust research and the development of resistant cultivars in Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 2016;38(1):1-18. DOI: 10.1080/07060661.2016.1145598
- McIntosh R.A., Dubcovsky J., Rogers W.J., Xia X.C., Raupp W.J. Catalogue of gene symbols for wheat: 2020 supplement. *Annual Wheat Newsletter*. 2020;66:109-128. Available from: <https://wheat.pw.usda.gov/ggpages/awn/66/AWNVOL66.pdf> [accessed on 11 May 2021].
- McIntosh R.A., Wellings C.R., Park R.F. Wheat rusts: An atlas of resistance genes. Australia: CSIRO; 1995. DOI: 10.1071/9780643101463
- Meshkova L.V., Rosseeva L.P., Korenyuk E.A., Belan I.A. Dynamics of distribution of the wheat leaf rust pathotypes virulent to the cultivars with *Lr9* gene in Omsk region. *Mycology and Phytopathology*. 2012;46:397-400. [in Russian] (Мешкова Л.В., Россеева Л.П., Коренюк Е.А., Белан И.А. Динамика распространения патотипа возбудителя бурой ржавчины, вирулентного к сортам пшеницы с геном *Lr9* в Омской области. *Микология и фитопатология*. 2012;46:397-400).
- Morgounov A., Ablova L., Babayants O., Babayants I., Bepalova L., Khudokormova Zh., Litvinenko N., Shamanin V., Syukov V. Genetic protection of wheat rusts and development of resistant varieties in Russia and Ukraine. *Euphytica*. 2011;179(2):297-311. DOI: 10.1007/s10681-010-0326-5
- Neu C., Stein N., Keller B. Genetic mapping of the *Lr20-Pml* resistance locus reveals suppressed recombination on chromosome arm 7AL in hexaploid wheat. *Genome*. 2002;45(4):737-744. DOI: 10.1139/g02-040.
- Pestsova E., Ganal M.W., Röder M.S. Isolation and mapping of microsatellite markers specific for the D genome of bread wheat. *Genome*. 2000;43(4):689-697. DOI: 10.1139/g00-042
- Plotnikova L.Ya., Shtubey T.Yu. Effectiveness of the wheat *Lr22b*, *Lr34*, and *Lr37* genes for adult plant resistance to leaf rust in west Siberia and the cytophysiological basis of their action. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2012;16(1):123-131. [in Russian] (Плотникова Л.Я., Штубей Т.Ю. Эффективность генов возрастной устойчивости пшеницы к бурой ржавчине *Lr22b*, *Lr34*, *Lr37* в Западной Сибири и цитофизиологическая основа их действия. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2012;16(1):123-131). DOI: 10.1134/S2079059713010115.
- Procunier J.D., Townley-Smith T.F., Fox S., Prashar S., Gray M., Kim W.K., Czarnecki E., Dyck P.L. PCR-based RAPD/DGGE markers linked to leaf rust resistance genes *Lr29* and *Lr25* in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Genetics and Breeding*. 1995;49:87-92.
- Qiu J.W., Schürch A.C., Yahiaoui N., Dong L.L., Fan H.J., Zhang Z.J., Keller B., Ling H.Q. Physical mapping and identification of a candidate for the leaf rust resistance gene *Lr1* of wheat. *Theoretical and Applied Genetics*. 2007;115:159-168. DOI: 10.1007/s00122-007-0551-z
- Sanin S.S. Epiphytotics of cereal crop diseases: theory and practice: selected works (Epifitotii boleznij zernovykh kultur: teoriya i praktika: izbrannye trudy). Moscow; 2012. [in Russian] (Санин С.С. Эпифитотии болезней зерновых культур: теория и практика: избранные труды. Москва, 2012).
- Schachermayr G., Feuillet C., Keller B. Molecular markers for the detection of the wheat leaf rust resistance gene *Lr10* in diverse genetic backgrounds. *Molecular Breeding*. 1997;3:65-74.
- 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. *European Journal of Plant Pathology*. 2011;130:559-575. DOI: 10.1007/s10658-011-9778-2
- Servin B., Martin O.C.; Mézard M., Hospital F. Toward a theory of marker-assisted gene pyramiding. *Genetics*. 2004;68(1):513-523. doi: 10.1534/genetics.103.023358.
- Seyfarth R., Feuillt C., Schachermayr G., Messmer M., Winzeler M., Keller B. Molecular mapping of the adult plant leaf rust resistance gene *Lr13* in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Genetics and Breeding*. 2000;54(3):193-198.
- Sibikeev S.N., Druzhin A.E., Badaeva E.D., Shishkina A.A., Dragovich A.Y., Gulyaeva E.I., Kroupin P.Y., Karlov G.I., Khuat T.M., Divashuk M.G. Comparative analysis of *Agropyron intermedium* (Host) Beauv 6Ag¹ and 6Ag² chromosomes in bread wheat cultivars and lines with wheat-wheatgrass substitutions. *Russian Journal of Genetics*. 2017;53(3):314-324. [in Russian] (Сибикеев С.Н., Бадаева Е.Д., Гульяева Е.И., Дружин А.Е., Шишкина А.А., Драгович А.Ю., Крупин П.Ю., Карлов Г.И., Кхуат Т.М., Дивашук М.Г. Сравнительный анализ 6Ag¹ и 6Ag² хромосом *Agropyron intermedium* (Host) Beauv у сортов и линий мягкой пшеницы с пшенично-пырейными замещениями. *Генетика*. 2017;53(3):98-309). DOI: 10.7868/S0016675817030110
- Sibikeev S.N., Krupnov V.A. Evolution of leaf rust and protection from it in the Volga region. *The Bulletin of Saratov State Agrarian University in honor of N.I. Vavilov*. 2007;(Special edition):92-94. [in Russian] (Сибикеев С.Н., Крупнов В.А. Эволюция листовой ржавчины и защита от нее пшеницы в Поволжье. *Вестник Саратовского государственного университета им. Вавилова*. 2007;(Спецвыпуск):92-94).
- Sibikeev S.N., Markelova T.S., Druzhin A.E., Vedeneeva M.L., Singkh D. Evaluation of a set of introgressive spring bread wheat lines developed for resistance to stem rust race *ug99 + Sr24* (TTKST) at the Agricultural Research Institute for the Southeast Region. *Russian Agricultural Sciences*. 2011;37(2):95-97. [in Russian] (Сибикеев С.Н., Маркелова Т.С., Дружин А.Е., Веденева М.Л., Сингх Д. Оценка набора интрогрессивных линий яровой мягкой пшеницы селекции НИИСХ Юго-Востока на устойчивость к расе стеблевой ржавчине Ug99+Sr24 (TTKST). *Доклады РАСХН*. 2011;(2):3-5).
- Singh S.K., Sahoo J.P., Swain E. A review on gene stacking in crop plant. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2018;7(4):1862-1865.
- Singh R.P., Trethowan R. Breeding spring bread wheat for irrigated and rainfed production systems of developing world. In: Kang M., Priyadarshan P.M. (eds). *Breeding major food staples*. Ames (Iowa): Blackwell; 2007. p.109-140.
- Sochalova L.P., Likhenko I.E. Evaluation of resistance to brown rust of *Lr*-lines and varieties of wheat, isogenic in genes, under conditions of Novosibirsk region. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK = Achievements of science and technology of AIC*. 2016;30(3):46-50. [in Russian] (Сочалова Л.П., Лихенко И.Е. Оценка устойчивости к бурой ржавчине изогенных по генам *Lr*-линий и сортов пшеницы в условиях новосибирской области. *Достижения науки и техники АПК*. 2016;30(3):46-50).
- State Register for Selection Achievements Admitted for Usage (National List). Vol.1 "Plant varieties" (official publication). Moscow: FGBNU "Rosinformagrotekh"; 2021. [in Russian] (Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Т.1. «Сорта растений» (официальное издание). Москва: ФГБНУ «Росинформагротех»; 2021). URL : <https://gossortrf.ru/gosseestr/> [дата обращения: 10.05.2021]
- Taverniers I., Papazova N., Bertheau Y., De Loose M., Holst-Jensen A. Gene stacking in transgenic plants: towards compliance between definitions, terminology, and detection within the EU regulatory framework. *Environmental Biosafety Research. EDP Sciences*. 2008;7(4):197-218. doi: 10.1051/ebr:2008018
- Tomkowiak A., Skowrońska R., Buda A., Kurasiak-Popowska D., Nawracała J., Kowalczewski L., Pluta M., Radzikowska D. Identification of leaf rust resistance genes in selected wheat cultivars and development of multiplex PCR. *Open Life Sciences*. 2019;14(1):327-334. DOI: 10.1515/biol-2019-0036
- Tyrushkin L.G., Kurbanova P.M. Possibility of using molecular markers F1.2245, GWM630, XGWM130 and XBARC352 to identify genes for resistance of common wheat to leaf rust (Vozmozhnost ispolzovaniya molekulyarnykh markerov F1.2245, GWM630, XGWM130 i XBARC352 dlya identifikatsii genov ustoychivosti myagkoy pshenitsy k listovoy rzhavchine). *Izvestiya Sankt-Peterburgskogo Gosudarstvennogo Agrarnogo Universiteta = Bulletin of the St. Petersburg State Agrarian University*. 2009;15:34-38. [in Russian] (Тырышкин Л.Г., Курбанова П.М. Возможность использования молекулярных маркеров F1.2245, GWM630, XGWM130 и XBARC352 для идентификации

-
- генов устойчивости мягкой пшеницы к листовой ржавчине. *Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета*. 2009;15:34-38).
- Vida G., Gál M., Uhrin A., Veisz O., Hasan Syed N., Flavell A.J., Wang Z., Bedò Z. Molecular markers for the identification of resistance genes and marker-assisted selection in breeding wheat for leaf rust resistance. *Euphytica*. 2009;170(1-2):67-76. DOI: 10.1007/s10681-009-9945-0
- Weng Y., Azhaguvel P., Devkota R.N., Rudd J.C. PCR based markers for detection of different sources of 1AL.IRS and 1BL.IRS wheat-rye translocations in wheat background. *Plant Breeding*. 2007;126(5):482-486. DOI: 10.1111/j.1439-0523.2007.01331.x
- Zhemchuzhina A., Kurkova N. Structure of population of *Puccinia triticina* in various regions of Russia in 2006-2008. *8th International Wheat Conference: Abstracts of oral and poster presentations; 2010 June 01-04; St. Petersburg, Russia*. St. Petersburg: VIR; 2010. p.279.