

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ И ИХ ДИКИХ РОДИЧЕЙ ДЛЯ РЕШЕНИЯ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ И ПРИКЛАДНЫХ ПРОБЛЕМ

Научная статья
УДК 632.4:633.1
DOI: 10.30901/2227-8834-2023-1-177-186



Анализ устойчивости к стеблевой ржавчине и идентификация Sr-генов у интрогрессивных линий яровой мягкой пшеницы

О. А. Баранова¹, С. Н. Сибикеев², Э. А. Конькова²

¹Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург, Россия

²Федеральный аграрный научный центр Юго-Востока, Саратов, Россия

Автор, ответственный за переписку: Ольга Александровна Баранова, baranova_oa@mail.ru

Актуальность. В связи с увеличением вредоносности на территории Поволжья стеблевой ржавчины пшеницы (возбудитель – *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* Erikss. & E. Henn.) и вероятностью заноса агрессивной расы Ug99 принципиальное значение приобретает оценка генетического разнообразия селекционного материала пшеницы и идентификация эффективных Sr-генов.

Материалы и методы. В работе анализировали 90 интрогрессивных линий яровой мягкой пшеницы селекции Федерального аграрного научного центра Юго-Востока, устойчивых к *P. graminis* f. sp. *tritici*. Для выявления генов устойчивости Sr24/Lr24, Sr25/Lr19, Sr26, Sr28, Sr31/Lr26, Sr32, Sr36, Sr38/Lr37, Sr39 и Sr57/Lr34 использовали молекулярные маркеры. Устойчивость растений анализировали по стандартным методикам, тип реакции определяли по шкале Стекмана.

Результаты. У селекционных линий яровой мягкой пшеницы идентифицированы гены Sr31/Lr26, Sr25/Lr19, Sr57/Lr34, Sr38/Lr37 и Sr39/Lr35. Ген Sr25 выявлен у 51 линии (56,7% изученных образцов), Sr31 – у 41 линии (45,6%), Sr57/Lr34 – у 5 линий, Sr38 – у 10 линий и Sr39 – у одной линии. Идентифицированы комбинации генов устойчивости: Sr31+Sr25 – у 28 линий (31,1%), Sr25+Sr38 – у 5 линий и Sr25+Sr39 – у одной линии. Гены Sr24/Lr24, Sr26, Sr28, Sr32 и Sr36 не выявлены.

Заключение. Выделены высокоустойчивые к *P. graminis* f. sp. *tritici* линии яровой мягкой пшеницы с перспективными комбинациями генов Sr31+Sr25, Sr25+Sr38 и Sr25+Sr39, которые могут быть использованы в российских селекционных программах.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L., селекционный материал, *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*, гены устойчивости

Благодарности: исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-26-00172, <https://rscf.ru/project/22-26-00172/>.

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.

Для цитирования: Баранова О.А., Сибикеев С.Н., Конькова Э.А. Анализ устойчивости к стеблевой ржавчине и идентификация Sr-генов у интрогрессивных линий яровой мягкой пшеницы. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2023;184(1):177-186. DOI: 10.30901/2227-8834-2023-1-177-186

IDENTIFICATION OF THE DIVERSITY OF CULTIVATED PLANTS AND THEIR WILD RELATIVES FOR SOLVING FUNDAMENTAL AND APPLIED PROBLEMS

Original article

DOI: 10.30901/2227-8834-2023-1-177-186

Analysis of resistance to stem rust and identification of *Sr* genes in introgressive lines of spring bread wheat

Olga A. Baranova¹, Sergey N. Sibikeev², Elmira A. Konkova²

¹All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Russia

²Federal Center of Agriculture Research of the South-East Region, Saratov, Russia

Corresponding author: Olga A. Baranova, baranova_oa@mail.ru

Background. Due to the increase in the harmfulness of wheat stem rust (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici* Erikss. & E. Henn.) in the Volga region, and the likelihood of the spread of the aggressive Ug99 race, an assessment of the genetic diversity of wheat breeding lines and identification of effective *Sr* genes are of fundamental importance.

Materials and methods. Ninety spring bread wheat introgressive lines with stem rust resistance, developed at the Federal Center of Agriculture Research of the South-East Region, were analyzed. Molecular markers were used to identify resistance genes: *Sr24/Lr24*, *Sr25/Lr19*, *Sr26*, *Sr28*, *Sr31/Lr26*, *Sr32*, *Sr36*, *Sr38/Lr37*, *Sr39* and *Sr57/Lr34*. The analysis of plants for resistance was carried out according to standard methods; the Stakman scale was applied to determine the type of reaction.

Results. The genes *Sr31/Lr26*, *Sr25/Lr19*, *Sr57/Lr34*, *Sr38/Lr37* and *Sr39/Lr35* were identified in the analyzed breeding lines. *Sr25* was found in 51 lines (56,7% of samples), *Sr31* in 41 lines (45.6%), *Sr57/Lr34* in 5 lines, *Sr38* in 10 lines and *Sr39* in one line. Combinations of resistance genes were identified: *Sr31+Sr25* in 28 lines (31.1%), *Sr25+Sr38* in 5 lines, and *Sr25+Sr39* in one line. The *Sr24/Lr24*, *Sr26*, *Sr28*, *Sr32* and *Sr36* genes were not identified.

Conclusion. As a result, promising highly resistant introgressive wheat lines with promising combinations of *Sr31+Sr25*, *Sr25+Sr38* and *Sr25+Sr39* genes were identified. They can be used in Russian breeding programs for immunity.

Keywords: *Triticum aestivum* L., wheat breeding material, *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*, resistance genes

Acknowledgments: the study was supported by the Russian Science Foundation, grant No. 22-26-00172, <https://rscf.ru/project/22-26-00172/>.

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

For citation: Baranova O.A., Sibikeev S.N., Konkova E.A. Analysis of resistance to stem rust and identification of *Sr* genes in introgressive lines of spring bread wheat. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2023;184(1):177-186. DOI: 10.30901/2227-8834-2023-1-177-186

Введение

Биотрофный гриб *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* Erikss. & E. Henn. (*Pgt*) является возбудителем наиболее вредоносного заболевания пшеницы – стеблевой ржавчины. Потери урожая при эпифитотийном развитии болезни на восприимчивых сортах могут достигать 50–100% (Ashagre, 2022). В Уганде в 1999 г. было впервые зарегистрировано поражение новой расой *P. graminis* f. sp. *tritici*, названной Ug99, сортов с геном *Sr31* (Pretorius et al., 2000). Раса Ug99 впоследствии распространилась соответственно розе ветров по Африканскому континенту до Ирана и Пакистана.

Позднее появились разновидности расы Ug99, поражающие также сорта с генами устойчивости *Sr24* (ТТКСТ) и *Sr36* (ТТТСК); к 2020 г. насчитывалось уже 15 биотипов патогена (https://rusttracker.cimmyt.org/?page_id=22). Есть вероятность заноса угандийской расы стеблевой ржавчины на территорию Российской Федерации через страны Центральной Азии и Ближнего Востока. С другой стороны, в странах Евразийского континента, в том числе и в России, с 2016 г. отмечается усиление вредоносности этого патогена. Появились не относящиеся к линейке Ug99 агрессивные расы гриба, вызвавшие сильнейшие эпифитотии патогена как в странах Европы, так и в России, особенно в Западной Сибири и Поволжье (Lewis et al., 2018; Vasilova et al., 2017; Baranova et al., 2019; Patpour et al., 2022).

К сожалению, генетическое разнообразие отечественных сортов пшеницы по генам устойчивости к стеблевой ржавчине крайне низко. В основном это гены *Sr25* и *Sr31*, которые пока сохраняют эффективность. Таким образом, расширение генетической основы сортов, получение разнообразного по генам устойчивости селекционного материала чрезвычайно актуально. Проблема успешно решается при использовании в селекции новых генов устойчивости, интрогрессированных от родственных видов пшеницы и представителей родов *Aegilops* L., *Secale* L. и *Agropyron* Gaertn. В связи с увеличением вредоносности патогена и острой потребностью в устойчивых сортах отечественной селекции необходимы анализ генетического разнообразия селекционных линий пшеницы и идентификация *Sr*-генов, эффективных как против российских популяций гриба, так и против расы Ug99.

Таким образом, целью нашей работы была идентификация эффективных *Sr*-генов у устойчивых к *P. graminis* f. sp. *tritici* интрогрессивных линий яровой мягкой пшеницы селекции Федерального аграрного научного центра Юго-Востока (ФАНЦ Юго-Востока) с использованием молекулярных маркеров.

Материалы и методы

В работе использовали селекционный материал ФАНЦ Юго-Востока (90 интрогрессивных линий) и 6 сортов, возделываемых на территории Поволжья и участвующих в родословных анализируемых линий. Все линии получены сучастием интрогрессивного генетического материала от *Triticum durum* Desf., *T. dicoccum* Schrank ex Schuebl., *T. carthlicum* Nevski (syn. *T. persicum* Vav.), *T. timopheevii* Zhuk., *Aegilops tauschii* Coss., *Ae. speltoides* Tausch, *Agropyron elongatum* (Host) Beauv., *Secale cereale* L.

Для инокуляции в лабораторных условиях использовали популяции возбудителя стеблевой ржавчины, собранные в 2022 г. в Арском районе Республики Татарстан (с сорта 'Надира') и в Самойловском районе Саратовской

области (с сорта 'Воевода'). Размножение популяций стеблевой ржавчины и анализ устойчивости растений в стадии проростков проводили по принятым методикам (Jin et al., 2007). Учет типов реакции проводили на 12 сутки после заражения проростков суспензией урединоспор гриба на 1 мл воды с Твин 20) по 4-балльной шкале E. C. Stakman (Stakman et al., 1962). Устойчивость или восприимчивость линии определяли по типам реакции: устойчивость – типы реакции «0», «0», «1», «2»; восприимчивость – «3», «4», «X». Знаками «+» и «-» после значения типа реакции отмечали больший или меньший размер урединопустул. Эксперименты проводили в двух повторностях. В полевых условиях на естественном инфекционном фоне устойчивость взрослых растений оценивали по шкале СИММИТ (Roelfs et al., 1992), где «S» – восприимчивость, «MS» – средняя восприимчивость, «MR» – средняя устойчивость, а «R» – устойчивость. Линии оценивали на экспериментальном участке ФАНЦ Юго-Востока (г. Саратов). Так как в 2022 г. из-за слабого развития патогена линии не были оценены, в статье приводятся данные полевой оценки 2021 г.

ДНК выделяли из 5-дневных проростков пшеницы СТАВ-методом (Murray, Thompson, 1980). Для идентификации генов устойчивости (*Sr24*, *Sr25*, *Sr26*, *Sr28*, *Sr31*, *Sr36*, *Sr38*, *Sr39* и *Sr57*) использовали ДНК-маркеры, которые применяют в маркер-ориентированной селекции (MAS): ген *Sr24/Lr24* – маркеры *Sr24#12*, *Sr24#50* (Mago et al., 2005); *Sr25/Lr19* – Gb (Prins et al., 2001); *Sr26* – *Sr26#43* (Mago et al., 2005); *Sr28* – wPt-7004-PCR, Xwmc332 (Rouse et al., 2012); *Sr31/Lr26* – SCM9 (Weng et al., 2007); *Sr36* – Xstm773-2 (Tsilo et al., 2008); *Sr38/Lr37* – VENTRIUP-LN2 (Helguera et al., 2003); *Sr39/Lr35* – *Sr39#22* (Mago et al., 2009); *Sr57/Lr34* – cslV34 (Lagudah et al., 2006). ПЦР проводили на термоциклере C1000 Thermal Cycler (BioRad) в двух повторностях. Положительным контролем в реакции были сорта и линии пшеницы с анализируемыми *Sr*-генами, негативным контролем – восприимчивый сорт пшеницы 'Хакасская', контролем на контаминацию – ПЦР-смесь без добавления ДНК. Разделение продуктов амплификации проводили в агарозных гелях (2%), окрашенных этидием бромидом. В качестве маркера молекулярного веса использовали GeneRuler™ 50bp DNA Ladder «Fementas». Электрофореграммы визуализировали с помощью гель-документирующей системы ChemiDoc XRS+ (Bio-Rad).

Результаты

По результатам полевой оценки в 2021 г. на естественном инфекционном фоне все анализируемые линии были устойчивы к саратовской популяции патогена.

При оценке в лабораторных условиях большинство линий было устойчиво (рис. 1), лишь 4 линии из 90 оказались восприимчивыми к популяциям стеблевой ржавчины, собранных с сортов 'Надира' и 'Воевода'. К татарстанской популяции с сорта 'Надира' были восприимчивы 12 линий, одна из которых гетерогенна по устойчивости, к саратовской популяции с сорта 'Воевода' восприимчивы 11 линий пшеницы.

В таблице 1 приведены результаты полевой и лабораторной оценки сортов яровой мягкой пшеницы, которые широко возделываются на территории Поволжья и участвуют в родословных интрогрессивных линий.

Лишь сорт 'Юго-Восточная 2' с геном *Sr31* устойчив как в поле на стадии взрослых растений, так и в лабора-

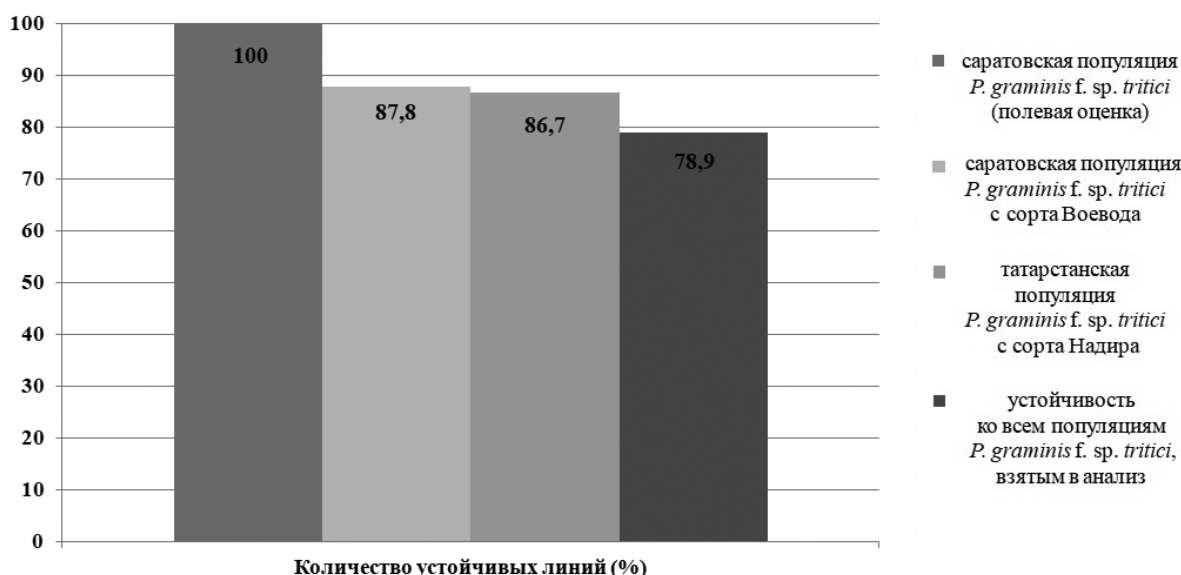


Рис. 1. Устойчивость линий яровой мягкой пшеницы к популяциям возбудителя стеблевой ржавчины
Fig. 1. Resistance of spring bread wheat lines to stem rust pathogen populations

Таблица 1. Устойчивость сортов яровой мягкой пшеницы к стеблевой ржавчине
Table 1. Resistance of spring bread wheat cultivars to stem rust

Сорт / Cultivar	Устойчивость к популяциям <i>Pgt</i> / Resistance to <i>Pgt</i> populations		
	Полевая оценка / Field evaluation	Лабораторная оценка проростков / Laboratory evaluation at the seedling stage	
	Саратовская популяция 2021 г. / Saratov population	Татарстанская популяция (с сорта 'Надира') 2022 г. / Tatarstan population (from cv. 'Nadira')	Саратовская популяция (с сорта 'Воевода') 2022 г. / Saratov population (from cv. 'Voevoda')
Саратовская 29	S	3	3
Саратовская 68	S	2	3++
Саратовская 74	S	3	3
Добрыня (<i>Sr25</i>)	MR	3+	3+
Юго-Восточная 2 (<i>Sr31</i>)	R	1	2
Фаворит (<i>Sr6Agi</i>)	S	1	3
Могоссо (восприимчивый контроль) при лабораторной оценке устойчивости	-	4	4

Примечание: расшифровка обозначений S, MR, R, +, - приведена в разделе «Материалы и методы»

Note: the abbreviations/symbols S, MR, R, + and - are explained in the *Materials and methods* section

торных условиях на стадии проростков (см. табл. 1). Сорта 'Саратовская 29' и 'Саратовская 74' восприимчивы ко всем популяциям гриба. Сорт 'Добрыня' (*Sr25*) среднеустойчив в поле, однако сильно поражен в лабораторных условиях. Сорт 'Саратовская 68' поражен как в поле, так и на стадии проростков популяцией гриба с сорта 'Воевода', однако среднеустойчив к татарстанской популяции патогена. Устойчив к этой популяции гриба

сорт 'Фаворит' (*Sr6Agi*), который сильно поражен и в поле, и в лаборатории саратовскими популяциями *Pgt*. Возможно, что ген *Sr6Agi* сохраняет свою эффективность на территории Татарстана.

Результаты, полученные при идентификации *Sr*-генов у анализируемых линий, представлены в таблице 2, где приведены только те линии, у которых были идентифицированы гены устойчивости.

Таблица 2. Анализ устойчивости к стеблевой ржавчине и идентификация Sr-генов у линий пшеницы
Table 2. Analysis of stem rust resistance and identification of Sr genes in wheat lines

Родословная / Pedigree	Устойчивость к Pgt / Resistance to Pgt			Идентифицированные Sr-гены / Identified Sr genes				
	I*	II	III	Sr31	Sr25	Sr57	Sr38	Sr39
Срос/Ае.squar(205)//Weaver/3/Л505/4/Бел/5/Фав	MR	4	4	-**	+	-	-	-
Ю-В-2/Л505//Л503 Lr26/3/Л505/4/С68	R	0;	1	+	+	-	-	-
Л505 /3/Срос/Ае.squar(205)//Weaver/4/Л505/5/С68	R	0;	1	+	+	-	-	-
Целинная20/*2 Добр//Реванш	R,MR	0;	1	+	+	-	-	-
С55/Аг. еl *5// С29 (т? Аг ^е -7D)/3/Добр Lr9	MR	0;	1+	-	+	-	-	-
С55//Добр/Л164//Агр139/Л528*2//AdT.dic-s/ Ае.spelt*5 С29//Добр	R,MR	1	0;	-	+	-	-	+
Л164/Ю-В-2// Добр	R	0;	0;	+	+	-	-	-
Ю-В-2/Бел//Добр 4	R	0	1	+	-	-	-	-
Л505*3//Прох/3/Бел	R,MR	1	1	+	+	-	-	-
С42/4/Л505/Прох//Л505/3/Л2032	R,MR	0;	0;	+	+	-	-	-
Л505*2/Л164//*2 Прох	R	0;	2++	+	+	-	-	-
Л505/Л164/4/Л503//Трап#1/Bow/3/Л503/5/Л505	MR	1	0;	+	-	-	-	-
Добр/3/Altar84/ Ае.squar(224)//Pgo/4/Добр	R,MR	1	2	-	+	-	-	-
Л505*4/Прох	R,MR	0;	1	+	+	-	-	-
С66/Ник//Л505	R,MR	0;	2	-	+	-	-	-
ЮВ2/Л505/Л503*4/ТсLr26	R	0;	1	+	+	-	-	-
Л505*3//Л2075/Л503	R	0;	1	+	+	-	-	-
Добр//Агро139/С29(1В)20"ЛrAgr//С29	R,MR	2	0;	-	+	-	-	-
Л III (С29/Л196 (Т.dicocum))	R,MR	0	2=	-	+	-	-	-
Л XI С29 им / Л2870	MR	2	3	-	+	-	-	-
С70/ Thatcher Lr 37//С70/3/Добр	R	0;	22+	-	-	-	-	+
Добр/ Trident//Добр/3/Добр	R	0	2	-	+	-	+	-
Бел/AvS Yr26	MR	1	0;	-	-	+	-	-
Грекум С2193/ Milan/Prinia//*4Добр	R	3	2++	-	-	-	+	-
Мульти 6R/ Добр Lr24 //С68	R	2	2	-	+	-	-	-
С68/Л484// Milan/Prinia//*4Добр	R	2	3	-	-	-	+	-
Добрыня/Yalta//Добрыня	R,MR	0	2	-	+	-	-	-
Добрыня/Yalta//Добрыня	R	2+	1	-	+	-	-	-
Добр/Longmai 98-8906//Добр	R	2	2	-	+	-	-	-
С70/3/ PASTOR/2*SITTA/PBW343*2/KUKUNA	R	2	1	-	-	-	+	-
Л 2/10 /3/ С60//Л528/Беянка	MR	2	1	+	-	-	-	-
Л 2/10 / Фаворит	R	1	1	+	-	-	-	-

Таблица 2. Продолжение

Table 2. Continued

Родословная / Pedigree	Устойчивость к Pgt / Resistance to Pgt			Идентифицированные Sr-гены / Identified Sr genes				
	I*	II	III	Sr31	Sr25	Sr57	Sr38	Sr39
Л 2/10 / Добрыня	R,MR	1	1	+	+	-	-	-
Л 4/10 /3/ Л505//Л2032*2/Мульти Lr 6R	R	0;	1	+	-	-	-	-
Л 4/10 /3/ Л505//Л2032*2/Мульти Lr 6R	R	2	1	+	-	-	-	-
Добр/ <i>T.persicum</i> *4//Добр	R	0;1	2=,1	+	+	-	-	-
C70/3/ PASTOR/2*SITTA/PBW343*2/KUKUNA/4/C70	R,MR	1	0;	-	+	-	+	-
C70/3/ PASTOR/2*SITTA/PBW343*2/KUKUNA/4/C70	R	1	1	-	+	-	+	-
C68/ <i>T.kiharae</i> //C70/3/C68	R	0;	3	-	+	-	-	-
Л503/ Thatcher Lr36*4//Л503	R	0	1	-	+	-	-	-
C68/ <i>T.timopheevii</i> *4//Добр	R	3-2	1,2	-	+	-	+	+
Satu/C70//C70	R	2	3-	-	-	+	-	-
C68/ <i>Triticum dicoccum</i> к 13659	R	2	1	+	+	-	-	-
Добр/ <i>T.persicum</i> //Добр/3/Добр	R	1-	0;	-	+	-	+	-
C68/ Thatcher Lr28*3//C68 /3/ ЭритроспермумС 2231	R	0	0	-	-	+	-	-
Л VI C29 им /Л2032//Л2032/3/ Эрит С 2231	R	3	0;	-	-	-	-	+
C70/ Памяти Майстренко//C68	R	2+	0	-	-	-	-	+
C70/ Памяти Майстренко//C68	R	3	2++	-	-	-	-	+
C70/ Памяти Майстренко//Добрыня	R	0	0;	-	+	-	-	+
Добр/ ThatcherLr28*3//Добр	R	1+	1	+	+	-	-	-
Л 2/10/3/Л505//Л2032*2/МультиLr 6R/4/ Эрит С2231	R	2	2	+	-	-	-	-
Л 2/10/3/Л505//Л2032*2/МультиLr 6R/4/ Эрит С2231	R	2	0;	+	-	-	-	-
Добр/Зол.волна//Добр/3/Добр/4/Добр	R	2	0;	+	+	-	-	-
Л VI C29 им /Л2032//Л2032 /3/Л2032	MR	0;	2++	-	+	-	-	+
C68/ Ke lao 6	R	0;	0;	-	-	+	-	-
Фав / Ke lao 6	R	3	0	-	-	+	-	-
C68/ <i>Triticum dicoccum</i> к 13659//C68	R	1	1	+	+	-	-	-
Л503/ <i>Triticum dicoccum</i> к 10456//Л503	R	1	0;	-	+	-	-	-
Milan/Prinia//*4Добр/3/Фаворит/4/Фав	R	3-	3,3+	-	+	-	-	-
Milan/Prinia//*4Добр/3/Фаворит/4/ Л505/3/Срос/ Ae.squar(205)//Weaver/4/Л505/5/Л505	R	1	1	+	+	-	-	-
Milan/Prinia//*4Добр/3/Фаворит/4/ Л505/3/Срос/ Ae.squar(205)//Weaver/4/Л505/5/Л505	R	3	4	+	+	-	-	-

Таблица 2. Окончание

Table 2. The end

Родословная / Pedigree	Устойчивость к <i>Pgt</i> / Resistance to <i>Pgt</i>			Идентифицированные <i>Sr</i> -гены / Identified <i>Sr</i> genes				
	I*	II	III	<i>Sr31</i>	<i>Sr25</i>	<i>Sr57</i>	<i>Sr38</i>	<i>Sr39</i>
Milan/Prinia//*4Добр/3/Фаворит/4/ Л505/3/Сroc/ Ae.squar(205)//Weaver/4/Л505/5/Л505	R	0;	1	+	+	-	-	-
Milan/Prinia//*4Добр/3/Фаворит/4/ Л505 /3/Сroc/ Ae.squar(205)//Weaver/4/Л505/5/Л505	R	2	1+	+	+	-	-	-
Hei 730 / C68// Л505*2/Прох//Бел (Л452)/3/Л452	R	2	3-	+	-	-	-	-
Фаворит/Sr28	R	2	1	-	-	-	+	-
Фаворит/Sr28	R	0	3	-	-	-	+	-
Добр*6Agi// Л505 /3/Сroc/Ae.squar(205)// Weaver/4/Л505/5/Л505 (Л375/17)	R	3	1	+	+	-	-	-
Добр*6Agi// Л505 3/Сroc/Ae.squar(205)// Weaver/4/Л505/5/Л505 (Л375/17)	R	2+	1	+	+	-	-	-
Добр*6Agi// Л505 /3/Сroc/Ae.squar(205)// Weaver/4/Л505/5/Л505 (Л375/17)	R	1	0;	+	+	-	-	-
Добр*6Agi// Л505 /3/Сroc/Ae.squar(205)// Weaver/4/Л505/5/Л505 (Л375/17)	R	1	1	+	+	-	-	-
Добр*6Agi// Л505 /3/Сroc/Ae.squar(205)// Weaver/4/Л505/5/Л505 (Л375/17)	R	1	1	+	+	-	-	-
Добр*6Agi// Л505*2/Прох//Бел (Л452)	R	0;	0;	+	+	-	-	-
Добр*6Agi// Л505*2/Прох//Бел (Л452)	R	1	0;	+	-	-	-	-
Добр*6Agi// Л505*2/Прох//Бел (Л452)	R	1	3	+	-	-	-	-
Добр*6Agi// Л505*2/Прох//Бел (Л452)	R	0;	0;	+	-	-	-	-
Добр*6Agi// Л505*2/Прох//Бел (Л452)	R	0;	0;	+	-	-	-	-
Добр/Зол.волна//Добр/3/Добр/4/Добр	R	0;	0;	+	+	-	-	-
Добр/Зол.волна//Добр/3/Добр/4/Добр	R	1	0;	+	+	-	-	-

Примечание: *I – полевая оценка устойчивости к саратовской популяции *Pgt* 2021 г.; II – лабораторная оценка устойчивости к татарстанской популяции *Pgt* с сорта 'Надира' 2022 г.; III – лабораторная оценка устойчивости к саратовской популяции *Pgt* с сорта 'Воевода' 2022 г.

** – указанные в колонках *Sr*-гены не были выявлены

Note: *I – field evaluation of resistance to the Saratov *Pgt* population in 2021; II – laboratory evaluation of resistance to the Tatarstan *Pgt* population from cv. 'Nadira' in 2022; III – laboratory evaluation of resistance to the Saratov *Pgt* population from cv. 'Voevoda' in 2022

** – the *Sr* genes indicated in the columns were not detected

Среди генов, эффективных к российским популяциям *Pgt*, но неэффективных к расе гриба Ug99, у линий был идентифицирован ген *Sr31*. Для идентификации *Sr31* в работе использовали маркер SCM9 (рис. 2), выявляющий пшенично-ржаную транслокацию 1RS.1BL. Эта транслокация несет ряд генов устойчивости к стеблевой, бурой и желтой ржавчинам, а также к мучнистой росе: *Sr31/Lr26/Yr9/Pm8*. Транслокация 1RS.1BL (ген *Sr31*) идентифицирована у 41 линии из 90 (45,6% образцов).

С использованием праймеров VENTRIUP-LN2 у 10 линий идентифицирован ген *Sr38*. У 51 линии с использованием рекомендованного для MAS маркера *Gb* идентифи-

цирован ген *Sr25* (56,7% линий), эффективный против расы Ug99 и ее биотипов. Ген *Sr28* идентифицировали с использованием двух маркеров: *wPt-7004-PCR* и *Xwmc 332*. При использовании *wPt-7004-PCR* диагностический фрагмент идентифицирован у 8 линий, а при использовании *Xwmc 332* – у 9 линий, однако результаты идентификации по обоим маркерам совпали только у контрольной линии – носителя *Sr28*, что свидетельствует об отсутствии данного гена в исследуемом материале. У пяти линий идентифицирован ген возрастной устойчивости *Sr57/Lr34* (маркер *csLV34*). Кроме того, у восьми линий с помощью маркера *Sr39#22* был предварительно идентифицирован ген *Sr39*, который интрогрессирован в мяг-

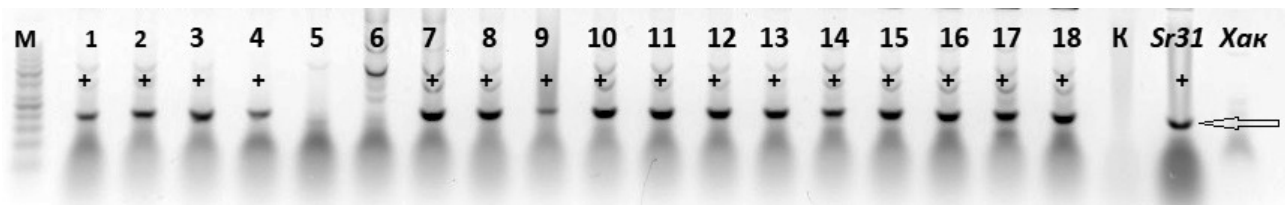


Рис. 2. Идентификация гена *Sr31* с использованием молекулярного маркера SCM9: *Sr31* – сорт ‘Аврора’, положительный контроль; Хак – сорт ‘Хакасская’, отрицательный контроль; №№ 1–18 (линии №№ 73–90); стрелка показывает диагностический фрагмент с молекулярным весом 207 п.о.

Fig. 2. Identification of the *Sr31* gene using the molecular marker SCM9: *Sr31* – cv. ‘Avrora’, positive control; Хак – cv. ‘Khakasskaya’, negative control; Nos. 1–18 (lines Nos. 73–90); the arrow indicates the diagnostic fragment with a molecular weight of 207 bp

кую пшеницу от *Aegilops speltoides* (Kerber, 1990). В то же время лишь у одной линии [C55//Добр/Л164//Agr139/Л528*2//AdT.dic-s/Ae.spelt*5 C29//Добр] в родословной присутствует *Ae. speltoides*, что свидетельствует о присутствии у нее гена *Sr39*. У этой линии идентифицирован также ген *Sr25*, и, вероятно, она содержит сочетание генов *Sr25+Sr39*. У исследованных интрогрессивных линий яровой мягкой пшеницы в основном были определены гены *Sr25* и *Sr31*. Комбинация генов *Sr31+Sr25* идентифицирована у 28 линий (31,1%), сочетание генов *Sr25+Sr38* выявлено у пяти линий. Гены *Sr24/Lr24*, *Sr26*, *Sr28*, *Sr32* и *Sr36* не обнаружены.

Обсуждение результатов

Как показали наши предыдущие исследования, гены *Sr25* и *Sr6Agi* потеряли свою эффективность на территории Нижнего Поволжья (Baranova et al., 2021). Сорта ‘Фаворит’ и ‘Воевода’ (с которых была собрана популяция гриба) в сильной степени поражались саратовской популяцией возбудителя стеблевой ржавчины (см. табл. 2). Сорт ‘Добрыня’ также восприимчив к саратовской и татарстанской популяциям патогена в лабораторных условиях и среднеустойчив в поле. Вместе с тем сорта ‘Фаворит’ устойчив к татарстанской популяции гриба. Возможно, что ген *Sr6Agi* еще эффективен на территории Татарстана, как и в Западной Сибири (Baranova et al., 2021). Селекционные линии пшеницы проявили высокую устойчивость как в полевых условиях, так и при лабораторной оценке ювенильной устойчивости. У части линий мы не идентифицировали известные гены устойчивости. Возможно, что они содержат неизвестные ранее гены, связанные с интрогрессиями генетического материала от диких видов пшеницы. У большинства устойчивых линий идентифицирован ген *Sr31* (транслокация 1RS.1BL). Ген *Sr31* выявлен у 41 линии из 90, что составляет 45,6% от общего числа изученных образцов. Четыре линии гетерогенны по транслокации 1RS.1BL, что объясняет их восприимчивость к возбудителю стеблевой ржавчины. Ген *Sr31* пока сохраняет эффективность на территории РФ.

По данным FAO (<http://www.fao.org/agriculture/crops/rust/stem-pathotypetracker/stem-effectivesgenes/en>), эффективными к расе Ug99 и ее биотипам остаются гены *Sr28*, *Sr29*, *SrTmp* (*Triticum aestivum* L.), *Sr2*, *Sr13*, *Sr14* (*T. turgidum* L.), *Sr22*, *Sr35* (*T. monococcum* L.), *Sr37* (*T. timopheevii*), *Sr32*, *Sr39* (*Aegilops speltoides*), *Sr47*, *Sr33*, *Sr45* (*Ae. tauschii*), *Sr40* (*Triticum araraticum* Jakubz.), *Sr25*, *Sr26*, *Sr43* (*Agropyron elongatum*), *Sr44* (*A. intermedium* (Host) Beauv.), *Sr27* и 1A.1R (*Secale cereale*). Эффективна и пирамида из ювенильных генов *Sr22*, *Sr25* и *Sr26* с генами воз-

растной устойчивости *Sr57* и *Sr55* (<https://www.fao.org/3/i8388ru/i8388RU.pdf>).

Ген *Sr57* (*Lr34/Yr18/Pm38/Bdv1*) – локус с плейотропным действием, детерминирующий неспецифическую устойчивость к биотрофным патогенам, в том числе и к *Pgt* – идентифицирован у пяти линий пшеницы, из которых две были восприимчивы на стадии проростков, а три устойчивы. Можно предположить, что у устойчивых линий есть еще не идентифицированные гены устойчивости.

Ген устойчивости к стеблевой ржавчине *Sr25*, тесно сцепленный с геном *Lr19* (устойчивость к бурой ржавчине), интрогрессирован в мягкую пшеницу от пырея удлиненного (*Agropyron elongatum*). Этот ген идентифицирован у большинства изученных линий (56,7%). У 28 линий выявлено сочетание генов *Sr31+Sr25*, обеспечивающее защиту от местных популяций патогена (*Sr31*) и от расы Ug99 (*Sr25*). Что же касается *Sr39*, то это эффективный ген, локализованный в хромосоме 2S *Aegilops speltoides* и сцепленный с геном *Lr35*, детерминирующим устойчивость к бурой ржавчине. Несмотря на то что маркер *Sr39#22*, использованный для его идентификации, видимо, недостаточно специфичен, у линии [C55//Добр/Л164//Agr139/Л528*2//AdT.dic-s/Ae.spelt*5 C29//Добр] замещение 2S (2D) было подтверждено И. Г. Адониной (ИЦиГ) в рамках проекта РНФ № 22-26-00172 методом флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), что делает предположение о наличии гена *Sr39* у данной линии достаточно обоснованным. У линий была выявлена комбинация генов *Sr38* и *Sr25*. Ген *Sr38* не эффективен против поволжских популяций патогена; *Sr25* также утратил свою эффективность. В то же время ранее было показано, что комбинация генов *Sr25+Sr38* эффективна в Курганской и Челябинской областях (Druzhin et al., 2018). Показано также, что сочетание потерявших эффективность против возбудителя бурой ржавчины генов *Lr19/Sr25* и *Lr37/Sr38/Yr17* у линий яровой мягкой пшеницы Л653 и Л654, с одной стороны, обусловило их высокую устойчивость к бурой ржавчине и, с другой стороны – к расе стеблевой ржавчины Ug99+*Sr24* (Sibikeev, Druzhin, 2015). В нашем исследовании четыре линии, несущие сочетание генов *Sr25+Sr38*, оказались устойчивыми ко всем популяциям *Pgt*, а одна была гетерогенна по устойчивости к татарстанской популяции гриба.

Заключение

В результате работы у селекционных линий яровой мягкой пшеницы идентифицированы гены *Sr31* (у 41 линии), *Sr25* (у 51 линии), *Sr57(Lr34)* (у 5 линий), *Sr38* (у 10 линий) и *Sr39* (у 1 линии).

Выделены высокоустойчивые к стеблевой ржавчине линии пшеницы с перспективными сочетаниями генов устойчивости: *Sr31+Sr25* – у 28 линий, *Sr25+Sr38* – у пяти линий и *Sr25+Sr39* – у одной линии. Данные линии могут быть использованы в селекционных программах, направленных на создание устойчивых к стеблевой ржавчине сортов пшеницы.

References / Литература

- Ashagre Z.A. Detection of wheat stem rust (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) physiological races from major wheat producing regions of Ethiopia. *Aquaculture and Fisheries Studies*. 2022;4(3):1-6. DOI: 10.31038/AFS.2022433
- Baranova O.A., Sibikeev S.N., Druzhin A.E. Molecular identification of the stem rust resistance genes in the introgression lines of spring bread wheat. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2019;23(3):296-303. DOI: 10.18699/VJ19.494
- Baranova O.A., Sibikeev S.N., Druzhin A.E., Sozina I.D. Loss of effectiveness of stem rust resistance genes *Sr25* and *Sr6Agi* in the lower Volga region. *Plant Protection News*. 2021;104(2):105-112. [in Russian] (Баранова О.А., Сибикеев С.Н., Дружин А.Е., Созина И.Д. Потеря эффективности генов устойчивости к стеблевой ржавчине *Sr25* и *Sr6Agi* на территории Нижнего Поволжья. *Вестник защиты растений*. 2021;104(2):105-112). DOI: 10.31993/2308-6459-2021-104-2-14994
- Druzhin A.E., Sibikeev S.N., Vlasovets L.T., Golubeva T.D., Kalintseva T.V. The study of agronomic valuable and adaptive traits in a new cultivar of spring bread wheat Alexandrite produced by introgression breeding. *Advances in Current Natural Sciences*. 2018;(9):12-17. [in Russian] (Дружин А.Е. Сибикеев С.Н. Власовец Л.Т. Голубева Т.Д. Калинцева Т.В. Изучение хозяйственно ценных и адаптивных признаков у нового сорта яровой мягкой пшеницы Александрит, созданного методом интрогрессивной селекции. *Успехи современного естествознания*. 2018;(9):12-17). DOI: 10.17513/use.36859
- Generalized Protocol for Race Analysis – Seedling Assays. Available from: https://www.fao.org/fileadmin/templates/rust/img/race_analysis_web.pdf [accessed June 08, 2021].
- 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
- Jin Y., Singh R.P., Ward R.W., Wanyera R., Kinyua M., Njau P. et al. Characterization of seedling infection types and adult plant infection responses of monogenic *Sr* gene lines to race TTKS of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. *Plant Disease*. 2007;91(9):1096-1099. DOI: 10.1094/PDIS-91-9-1096
- Kerber E.R., Dyke P.L. Transfer to hexaploid wheat of linked genes for adult-plant leaf rust and seedling stem rust resistance from amphiploid of *Aegilops speltoides* × *Triticum monococcum*. *Genome*. 1990;33:530-537.
- 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(1):21-30. DOI: 10.1007/s00122-006-0406-z
- Lewis C.M., Persoons A., Bebb D.P., Kigathi R.N., Maintz J., Findlay K. et al. Potential for re-emergence of wheat stem rust in the United Kingdom. *Communications Biology*. 2018;1:13. DOI: 10.1038/s42003-018-0013-y
- Mago R., Bariana H.S., Dundas I.S., Spielmeier W., Lawrence G.J., Pryor A.J. et al. 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 D.C., Bansal U.K., Ellis J.G. et al. 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):1441-1450. DOI: 10.1007/s00122-009-1146-7
- Murray M.G., Thompson W.F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research*. 1980;8(19):4321-4325. DOI: 10.1093/nar/8.19.4321
- Patpour M., Hovmøller M.S., Rodriguez-Algaba J., Randazzo B., Villegas D., Shamanin V.P. et al. Wheat stem rust back in Europe: diversity, prevalence and impact on host resistance. *Frontiers in Plant Science*. 2022;13:882440. DOI: 10.3389/fpls.2022.882440
- Pretorius Z.A., Singh R.P., Wagoire W.W., Payne T.S. Detection of virulence to wheat stem rust resistance gene *Sr31* in *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* in Uganda. *Plant Disease*. 2000;84(2):203. DOI: 10.1094/PDIS.2000.84.2.203B
- Prins R., Groenewald J.Z., Marais G.F., Snape J.W., Koeber R.M.D. AFLP and STS tagging of *Lr19*, a gene conferring resistance to leaf rust in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*. 2001;103(4):618-624. DOI: 10.1007/PL00002918
- Roelfs A.P., Singh R.P., Saari E.E. Rust diseases of wheat: concepts and methods of disease management. Mexico: CIMMYT;1992.
- Rouse M.N., Nava I.C., Chao S., Anderson J.A., Jin Y. Identification of markers linked to the race Ug99 effective stem rust resistance gene *Sr28* in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 2012;125(5):877-885. DOI: 10.1007/s00122-012-1879-6
- Sibikeev S.N., Druzhin A.E. Prebreeding research of near isogenic lines of spring bread wheat with a combination of translocations from *Agropyron elongatum* (Host) P. B. and *Aegilops ventricosa* Tausch. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2015;19(3):310-315. [in Russian] (Сибикеев С.Н. Дружин А.Е. Пребридинговые исследования почти изогенных линий яровой мягкой пшеницы с комбинацией транслокаций от *Agropyron elongatum* (Host) P. B. и *Aegilops ventricosa* Tausch. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2015;19(3):310-315). DOI: 10.18699/VJ15.040
- Stakman E.C., Steward D.M., Loegering W.Q. Identification of physiologic races of *Puccinia graminis* var. *tritici*. Washington, DC: USDA-ARS; 1962.
- Tsilo T.J., Jin Y., Anderson J.A. Diagnostic microsatellite markers for detection of stem rust resistance gene *Sr36* in diverse genetic backgrounds of wheat. *Crop Science*. 2008;48(1):253-261. DOI: 10.2135/cropsci2007.04.0204
- Vasilova N.Z., Askhadullin Dam.F., Askhadullin Dan.F. Stem rust epiphytotic on soft spring wheat in Tatarstan. *Journal of Plant Protection and Quarantine*. 2017;(2):27-28. [in Russian] (Василова Н.З., Асхадуллин Дам.Ф., Асхадуллин Дан.Ф. Эпифитотия стеблевой ржавчины на яровой пшенице в Татарстане. *Защита и карантин растений*. 2017;(2):27-28).
- Weng Y., Azhaguvel P., Devkota R.N., Rudd J.C. PCR-based markers for detection of different sources of 1AL.1RS and 1BL.1RS wheat-rye translocations in wheat background. *Plant Breeding*. 2007;126(5):482-486. DOI: 10.1111/j.1439-0523.2007.01331.x

Информация об авторах

Ольга Александровна Баранова, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, 196608 Россия, Санкт-Петербург, Пушкин, шоссе Подбельского, 3, baranova_oa@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9439-2102>

Сергей Николаевич Сибикеев, доктор биологических наук, главный научный сотрудник, Федеральный аграрный научный центр Юго-Востока, 410010 Россия, Саратов, ул. Тулайкова, 7, sibikeev_serгей@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8324-9765>

Эльмира Александровна Конькова, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник, Федеральный аграрный научный центр Юго-Востока, 410010 Россия, Саратов, ул. Тулайкова, 7, baukenowaea@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8607-2301>

Information about the authors

Olga A. Baranova, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, All-Russian Institute of Plant Protection, 3 Podbelskogo Hwy., Pushkin, St. Petersburg 196608, Russia, baranova_oa@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9439-2102>

Sergey N. Sibikeev, Dr. Sci. (Biology), Chief Researcher, Federal Center of Agriculture Research of the South-East Region, 7 Tulaikova St., Saratov 410010, Russia, sibikeev_serгей@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8324-9765>

Elmira A. Konkova, Cand. Sci. (Agriculture), Leading Researcher, Federal Center of Agriculture Research of the South-East Region, 7 Tulaikova St., Saratov 410010, Russia, baukenowaea@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8607-2301>

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests: the authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 08.12.2022; одобрена после рецензирования 22.01.2023; принята к публикации 02.03.2023.
The article was submitted on 08.12.2022; approved after reviewing on 22.01.2023; accepted for publication on 02.03.2023.