

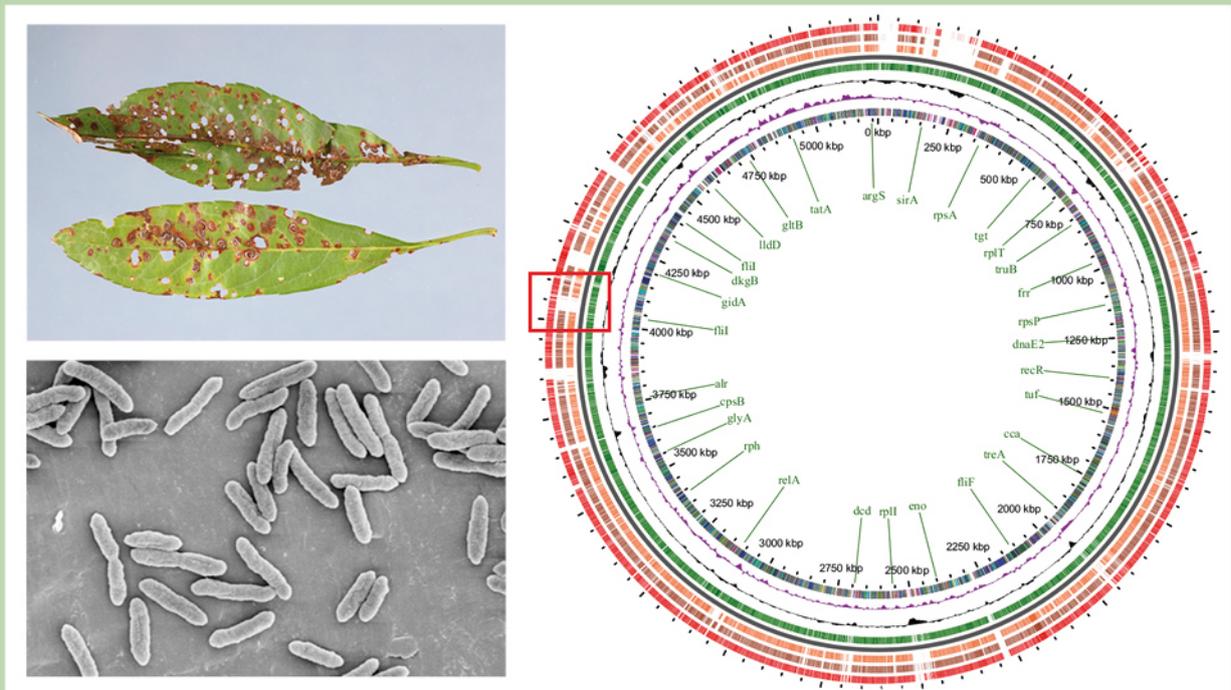


ISSN 1727-1320 (Print),
ISSN 2308-6459 (Online)

ВЕСТНИК ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

PLANT PROTECTION NEWS

2021 TOM VOLUME 104 ВЫПУСК ISSUE 2



Санкт-Петербург
St. Petersburg, Russia

ПОТЕРЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ К СТЕБЛЕВОЙ РЖАВЧИНЕ *SR25* И *SR6AGI* НА ТЕРРИТОРИИ НИЖНЕГО ПОВОЛЖЬЯ

О.А. Баранова^{1*}, С.Н. Сибикеев², А.Е. Дружин², И.Д. Созина¹

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

²Федеральный аграрный научный центр Юго-Востока, Саратов

* ответственный за переписку, e-mail: baranova_oa@mail.ru

Пшеница – одна из важнейших продовольственных культур в России. Ржавчинные заболевания (бурая, желтая и стеблевая ржавчины) – особо опасные заболевания пшеницы, представляющие угрозу продовольственной безопасности. Стеблевая ржавчина (возбудитель – биотрофный гриб *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) наиболее вредоносна – потери урожая могут достигать 50–80% и более. В работе представлены результаты анализа устойчивости к стеблевой ржавчине 189 интрогрессивных линий яровой мягкой пшеницы селекции Федерального аграрного научного центра Юго-Востока и 11 возделываемых в Нижнем Поволжье сортов в вегетационные сезоны 2016–2020 гг, а также результаты фитопатологической оценки вирулентности саратовских популяций патогена 2016–2020 гг. Показано, что к саратовским популяциям *P. graminis* 2016–2020 гг. эффективны гены *Sr13*, *Sr26*, *Sr31*, *Sr35* и сочетания генов *Sr24+31*, *Sr36+31* и *Sr26+9g*. За все годы исследования не выявили изолятов, вирулентных к линии с геном *Sr31*. Анализ устойчивости сортов и линий пшеницы показал потерю эффективности гена *Sr6Agi* с 2016 года и постепенную потерю эффективности *Sr25* к 2020 году. В 2020 г. сорта – носители гена *Sr25* (Лебедушка и Добрыня), а также линии с этим геном поразились саратовской популяцией стеблевой ржавчины, как в лабораторных условиях при искусственном заражении, так и в поле на естественном инфекционном фоне. В проанализированных 189 интрогрессивных линиях были в основном идентифицированы гены *Sr25/Lr19* (77.2%) и *Sr31/Lr26* (22.2%), также гены *Sr22*, *Sr35*, *Sr28*, *Sr38/Lr37* и *Sr57/Lr34*. Выделено 50 высокоустойчивых к стеблевой ржавчине линий, несущих сочетание гена *Sr31* с *Sr25/Lr19* и *Sr6Agi*. Таким образом, показано, что ген *Sr31* эффективен против поволжских популяций *P. graminis*, а гены *Sr6Agi* и *Sr25* потеряли свою эффективность на территории Поволжья.

Ключевые слова: яровая мягкая пшеница, интрогрессивные линии, *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*, *Sr*-гены

Поступила в редакцию: 18.04.2021

Принята к печати: 09.06.2021

Введение

В последние годы наблюдается усиление вредоносности стеблевой ржавчины пшеницы (возбудитель биотрофный гриб *Puccinia graminis* Pers. f. sp. *tritici* Eriks. & Henn.) как на территории стран Африки и Америки, так и стран Евразийского континента, в том числе и в России. С одной стороны, сохраняется угроза проникновения на территорию Российской Федерации высоковредоносной расы возбудителя стеблевой ржавчины – Ug99 (ТТКСК), поражающей сорта с геном *Sr31*, распространенной в странах Африки и Ближнего Востока, и мигрирующей в направлении Средней и Юго-Восточной Азии (данные CIMMYT). С другой стороны, в мире появились новые агрессивные расы возбудителя стеблевой ржавчины, отличные от Ug99. Несмотря на то, что ген *Sr31* остается к ним эффективным, они вызывали жесточайшие эпифитотии, как, например, раса ТКТТФ, названная также Digalu в 2012 г в Эфиопии, потери урожая от этой расы достигали почти 100% (Olivera et al., 2017). Или раса ТТТТФ, поразившая в 2016 году огромные площади (несколько тысяч гектаров) твердой пшеницы на Сицилии (Италия). Это была крупнейшая за последние десятилетия вспышка стеблевой ржавчины в Европе. Позднее было показано, что раса ТТТТФ вирулентна к линиям с генами *Sr9e*, *Sr13* и авирулентна к генам *Sr31*, *Sr24* и *Sr25* (Bhattacharya, 2017). Также в 2016 году на территории Южной Америки в Эквадоре была выявлена

раса RRTTF, вирулентная к *Sr38* и *Sr13*, что стало реальной угрозой для производства пшеницы в Северной и Южной Америке, поскольку значительная часть современных коммерческих сортов оказалась к ней восприимчива <http://gustracker.cimmyt.org/?p=7143> (08.06.2021). В 2015, 2016 годах эпифитотийное развитие стеблевой ржавчины наблюдалось в Северном Казахстане (Койшыбаев, 2017). На территории Российской Федерации эпифитотийное развитие болезни отмечалось в 2015–2020 годах в Западной Сибири, Центральном регионе Европейской части РФ и Нижнем Поволжье (Шаманин и др., 2017). В 2016 году в Западной Сибири выявлена раса ТТТТФ, отличающаяся от сицилийской расы (по данным Global Rust Reference Center). В том же 2016 году на посевах яровой мягкой пшеницы в период колошения на всей территории Республики Татарстан отмечалось сильнейшее распространение стеблевой ржавчины. Все сорта пшеницы, рекомендованные для возделывания в Татарстане, были восприимчивы кроме образцов *Triticum dicoccum* Shuebl., а также сортов Тулайковская 5 и Белка (Василова и др., 2017). В Саратовской области, особенно в Правобережной её части, в 2016 году эпифитотия стеблевой ржавчины начиналась с молочной спелости зерна (начало июля) и продолжалась до полного созревания и уборки. Степень развития достигала 80%, поражённые сорта снизили урожай на 50% и масса

1000 зерен была на уровне 18–19 грамм (Сибикеев, неопубликованные данные).

В условиях изменения климата и ухудшения эпифитотийной ситуации остро стоит проблема низкого генетического разнообразия возделываемых сортов пшеницы, в том числе и по генам устойчивости. В результате селекции, направленной на продуктивность и качество зерна, произошло сильное обеднение генофонда пшеницы по многим признакам, в том числе и по устойчивости к фитопатогенам, и это общемировая тенденция (Wulf and Moscou, 2014). Большинство современных сортов пшеницы восприимчивы к возбудителю стеблевой ржавчины (Волкова и др., 2010; Волкова, Сияк, 2011), а устойчивые российские сорта защищены от *P. graminis* в основном генами *Sr31* и *Sr25*. На территории Поволжья в районированных российских яровых сортах мягкой пшеницы

широко распространены гены устойчивости *Sr25* и *Sr6Agi*, и селекция на введение в сорта именно этих генов ведется и в настоящее время.

С другой стороны, на фоне стремительного распространения патогена по территории России, особенно в крупнейших зернопроизводящих регионах, таких как Поволжье и Западная Сибирь, особенно остро стоит проблема потери эффективности генов устойчивости, распространенных в возделываемых отечественных сортах.

Целью нашей работы была оценка возделываемых в Нижнем Поволжье сортов, а также интрогрессивных линий яровой мягкой пшеницы селекции ФГБНУ «ФАНЦ Юго-Востока» на устойчивость к стеблевой ржавчине в 2016–2020 гг, идентификация в них эффективных *Sr*-генов и анализ вирулентности саратовской популяции *P. graminis* с определением эффективных генов устойчивости.

Материалы и методы

Материалом исследования служили 189 интрогрессивных линий с чужеродным генетическим материалом селекции ФГБНУ «ФАНЦ Юго-Востока» (НИИСХ Юго-Востока). Линии получены с участием генетического материала от *Triticum kiharae* Dorof. & Migush., *T. timopheevii* Zuk., *T. timococcum* Kost., *T. dicoccum*, *T. persicum* Vav. ex Zhuk., *Aegilops squarrosa* L., *Ae. columnaris* Zhuk., *Ae. speltoides* Tausch., *Ae. sharonensis* Eig., *Agropyron elongatum* Host., *Ag. intermedium* Host., *Secale cereale* L., австралийского сорта ярового тритикале Satu, а также сортов и линий, носителей генов *Sr22*, *Sr35* и *Sr13*. А также 11 сортов яровой мягкой пшеницы, участвующих в родословных интрогрессивных линий – Саратовская 55, Саратовская 68, Саратовская 70, Саратовская 73, Альбидум 32, Фаворит, Добрыня, Воевода и Лебедушка, селекции ФГБНУ «ФАНЦ Юго-Востока», а также Прохоровка и Юго-Восточная 2, селекции ФГБНУ «Ершовская ОСОЗ НИИСХ Юго-Востока». Эти сорта занимают свыше 95 % площадей в Саратовской и Волгоградской областях, а также распространены в Средневолжском, Уральском и частично Центрально-чернозёмном регионах России. В ходе работы были проанализированы популяции возбудителя стеблевой ржавчины, собранные в Саратовской области (включая район г. Саратова и Лысогорский район Саратовской области). Популяции гриба были собраны с гербарного материала сильно пораженных стеблевой ржавчиной восприимчивых сортов пшеницы. Пораженные стеблевой ржавчиной образцы пшеницы собирались рандомизированно, согласно принятым методикам (Койшыбаев, Муминджанов, 2016). Популяции *P. graminis* с гербарных образцов были размножены на универсально-восприимчивом сорте пшеницы Хакасская по принятым методикам (Generalized Protocol, 08.06.2021).

Вегетационные условия в годы исследования были контрастные по осадкам, если 2016 и 2017 гг оценивались как благоприятные, то 2018 и 2019 – как острозасушливые. В 2016 г и 2017 г наблюдали эпифитотийное развитие стеблевой ржавчины, в 2018 г и 2019 гг стеблевая ржавчина наблюдалась на позднеспелых образцах яровой мягкой пшеницы или при позднем посеве. Вегетационный сезон 2020 года разделился по погодным условиям на два периода: достаточная влажность и умеренная температура от начала вегетации до цветения (апрель – середина июня) и острозасушливый с повышенной температурой воздуха с

начала налива зерна до уборки. В этот год наблюдали эпифитотийное развитие стеблевой ржавчины.

Фитопатологическую оценку проводили по стандартной лабораторной методике на проростках (Jin et al., 2007; Generalized Protocol, 08.06.2021) в условиях контролируемой температуры и влажности. Для анализа ювенильной устойчивости использовали саратовскую популяцию патогена. Реакцию проростков на инокуляцию суспензией спор возбудителя стеблевой ржавчины проводили на 12 сутки по стандартной по 4-х балльной шкале Stakman and Levine (1962). Об устойчивости/восприимчивости образца судили на основании типов реакции в двух повторностях. Устойчивыми считали растения с типами реакции «0», «0;», «1», «2» восприимчивыми – «3», «4», «X». В качестве критериев оценки устойчивости взрослых растений в полевых условиях (естественный фон) служили тип реакции и степень поражения растений по шкале, рекомендуемой СИММИТ (Roelfs, Singh, 1992): R – устойчивость к заражению; MR – средняя устойчивость; MS – средняя восприимчивость; S – восприимчивая реакция.

Анализ вирулентности *P. graminis* f. sp. *tritici* был проведен на наборе из 20 дифференциаторов (North American differential set: *Sr5*, *Sr21*, *Sr9e*, *Sr7b*, *Sr11*, *Sr6*, *Sr8a*, *Sr9g*, *Sr36*, *Sr9b*, *Sr30*, *Sr17*, *Sr9a*, *Sr9b*, *Sr10*, *SrTmp*, *Sr24*, *Sr31*, *Sr38*, *SrMcN*) и добавочных линиях с *Sr* генами: *Sr2compl*, *Sr8b*, *Sr11*, *Sr12*, *Sr13*, *Sr15*, *Sr17+13*, *Sr20*, *Sr22*, *Sr25*, *Sr26*, *Sr27*, *Sr28*, *Sr29*, *Sr32*, *Sr33+5*, *Sr33*, *Sr35*, *Sr36*, *Sr37*, *Sr39*, *Sr40*, *Sr44*, *SrDb*, *Sr WLD*, *SrWLD-1*, *Sr24+31*, *Sr36+31*, *Sr24+31*, *Sr31+36*, *Sr24+36*, *Sr2+23*, *Sr7a+12*, *Sr7b+18*, *Sr26+9g*. сорта Аврора (*Sr31*) и Хакасская (восприимчивый контроль).

ДНК выделяли из пятидневных проростков пшеницы методом с использованием цетилтриметиламмонийбромида (СТАВ) (Murray, Thompson, 1980). Для идентификации генов устойчивости использовали молекулярные маркеры, рекомендованные для маркер-ориентированной селекции (MAS): маркер *csSr2* для гена *Sr2* (Mago et al., 2011); *Gb* для *Sr25/Lr19* (Ayala-Navarrete et al., 2007); *Sr26#43* для *Sr26* (Mago et al., 2005); *scm9* для *Sr31/Lr26* (Weng et al., 2007); *csSr32#1* и *csSr32#2* для гена *Sr32* (Mago et al., 2013); *Xcfa2071* и *XBF485004* для *Sr35* (Zhang et al., 2010); *Xcmwg682* для *Sr38* (Helguera et al., 2003); *Xwmc477i* и *Xstm773-2* для *Sr36* (Tsilo et al., 2008);

wPt-7004-PCR и Xwmc332 для *Sr28* (Rouse et al., 2012); csLV34 для *Sr57/Lr34* (Lagudah et al., 2006). Амплификацию проводили на термоциклере C1000 Thermal Cycler (BioRad), разделение продуктов амплификации проводили в 2% агарозных гелях, окрашенных бромистым этидием. Позитивным контролем служили изогенные линии и сорта с известными *Sr*-генами, негативным контролем

– восприимчивый сорт Хакасская, контролем на контаминацию – ПЦР смесь без добавления ДНК. В качестве маркера молекулярного веса использовали GeneRuler™ 50bp DNA Ladder («Fementas»). Визуализацию продуктов амплификации проводили с помощью геледокументирующей системы ChemiDoc XRS+ (Bio-Rad). ПЦР ставили в 2-х повторностях.

Результаты

Анализ вирулентности саратовских популяций

P. graminis 2016–2020 гг

Были проанализированы популяции возбудителя стеблевой ржавчины, собранные в Саратовской области (включая Лысогорский район Саратовской области) в

2016–2020 гг по признаку вирулентности в лабораторных условиях на наборе 20 линий-дифференциаторов (North American differential set) и добавочных *Sr* линиях (26 линий). Данные оценки популяций патогена на стадии проростков представлены в таблице 1.

Таблица 1. Устойчивость *Sr* линий к популяциям *P. graminis* f. sp. *tritici* 2016–2019 гг
Table 1. Resistance of *Sr* lines to different populations of *P. graminis* f. sp. *tritici* in 2016–2019

Линии с <i>Sr</i> геном Lines containing <i>Sr</i> gene	Устойчивость (тип реакции) / Resistance (reaction type)						
	Популяции патогена, собранные в Лысогорском районе Саратовской области Pathogen populations collected in Lysogorsk region of Saratov oblast			Саратовская область Saratov Oblast		Лысогорский район Саратовской области с сорта Фаворит Lysogorsk region of Saratov oblast on variety 'Favorit'	
	2016 г	2017 г	С сорта Белянка 2017 г	2017 г	2020 г	2018 г	2019 г
1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Sr5</i>	3	3	4	3	3	3-	3
<i>Sr6</i>	3	3	4	3	3	3	4
<i>Sr7b</i>	3+	3	3	3	3	3+	3
<i>Sr8a</i>	3	3	4	3	3	3	3
<i>Sr8b</i>	3	3	3	3	3	4	3
<i>Sr9a</i>	3	4	3	3	3	4	4
<i>Sr9b</i>	3	3	3	3	3	3	3
<i>Sr9d</i>	3	4	3	3	3	4	4
<i>Sr9e</i>	3	3	3	3	3	4	4
<i>Sr9g</i>	3-	3	3	3	3	3	3
<i>Sr10</i>	3	4	4	3	3	4	3
<i>Sr11</i>	3	3	4	3	3	4	4
<i>Sr12</i>	3+	3	3	3	3	3	4
<i>Sr13</i>	2	1	2	2-	1	2	2
<i>Sr15</i>	2,2+,3	3	4	3	4	4	4
<i>Sr17</i>	2	1,3	3	1,0;	3	3	10;3
<i>Sr20</i>	3-	3	3	3	4	3	3-
<i>Sr21</i>	2++,3	2+,3	4	2,3	3	3	3
<i>Sr22</i>	3	3	3	3	3	4	4
<i>Sr24*</i>	1;	1-2.	1	1	0;	1-2.	0;
<i>Sr25</i>	2,3	3	2++,3-	2	4	1,3-	1,3-
<i>Sr26</i>	1;	1+	1;	1		1-	1
<i>Sr27</i>	3	3	3	3	4	3	4
<i>Sr28</i>	3	3	4	3	4	4	4
<i>Sr29</i>	3	1,3	3	1,3	4	3	4
<i>Sr30</i>	3+	4	4	3	3	3+	3
<i>Sr31</i>	1;	1;	1;	1;	0;1	1	0;1
<i>Sr32</i>	2	1	2+	1	3	2+	4
<i>Sr33</i>	1	-	-	-	4	3	4
<i>Sr35</i>	2	1-2	2	1-2	1	1-2	2
<i>Sr36</i>	1,3	3	3-	2+	3	4	4
<i>Sr37</i>	3	3	4	3	3	3	3-
<i>Sr38</i>	3	3	4	3	3	3+	4
<i>Sr39</i>	3	4	4	3	3	4	4
<i>Sr40</i>	3	3	2	4	3	4	4
<i>Sr44</i>	3	3	3	4	4	4	4
<i>SrWld</i>	3	-	4	-	-	3	-
<i>SrTmp</i>	3	3	3	3	3	3	3
<i>Sr NcM</i>	3	3	3	3	3	3	4
<i>Sr24+31</i>	1	1	1	1	1	1	1

Продолжение таблицы 1 / Table 1 continued

1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Sr36+31</i>	1	1	1	1	1	1	1
<i>Sr24+36</i>	1	0;	0;	1;	1	1	1
<i>Sr26+9g</i>	1	1	1	1	1	2+	2
<i>Sr7a+12</i>	3	3	4	-	3	3-	3
<i>Sr7b+18</i>	3-	-	-	-	4	3	4
<i>Sr17+13</i>	3,2+,1	0	2-	0;	3	4	4

□ – устойчивость; «*» – при анализе расового состава были выделены изоляты, вирулентные к линии с геном *Sr24*
 □ – resistance; «*» – analyses of race composition revealed isolates virulent to the line containing gene *Sr24*

Из результатов многолетнего анализа можно заключить, что гены *Sr13*, *Sr26*, *Sr31*, *Sr35* и сочетания генов – *Sr24+31*, *Sr36+31* и *Sr26+9g* пока сохраняют свою эффективность к саратовским популяциям возбудителя стеблевой ржавчины. Однако из этих генов только *Sr31* распространен в российских возделываемых сортах пшеницы, и надо подчеркнуть, что местные патотипы гриба, вирулентные к нему, пока не выявлены. Что касается гена *Sr25*, то, как видно из таблицы 1, во все годы изучения

из популяций гриба выделялись изоляты, вирулентные к линии с *Sr25*. Исключение составила только популяция из саратовской области 2017 года. Линии с геном *Sr6Agi* в нашем наборе *Sr*-линий не было, однако тот факт, что, начиная с 2016 года, наблюдали сильное поражение стеблевой ржавчиной сортов Фаворит (*Sr6Agi*), Воевода (*Sr6Agi*) и Белянка (*Sr6Agi*), говорит о потере эффективности данного гена на территории Поволжья.

Идентификация генов устойчивости

В 11 сортах и 189 интрогрессивных линиях с использованием молекулярных маркеров были идентифицированы гены устойчивости к стеблевой ржавчине. В сортах Прохоровка и Юго-Восточная 2 – *Sr31*, в сортах Добрыня и Лебедушка – *Sr25*.

Всего было проанализировано 189 интрогрессивных линий. В проанализированных интрогрессивных линиях с использованием молекулярных маркеров в основном

были идентифицированы гены *Sr25/Lr19* (77.2%) и *Sr31/Lr26* (22.2%) (рис.1 и рис.2).

Кроме того, в некоторых линиях были идентифицированы такие гены, как *Sr22*, *Sr35*, *Sr28*, *Sr38/Lr37* и *Sr57/Lr34*. Гены *Sr2*, *Sr13*, *Sr24*, *Sr26*, *Sr32*, *Sr36* в анализируемых линиях обнаружены не были. Количество линий с идентифицированными *Sr*-генами представлено на рисунке 3.

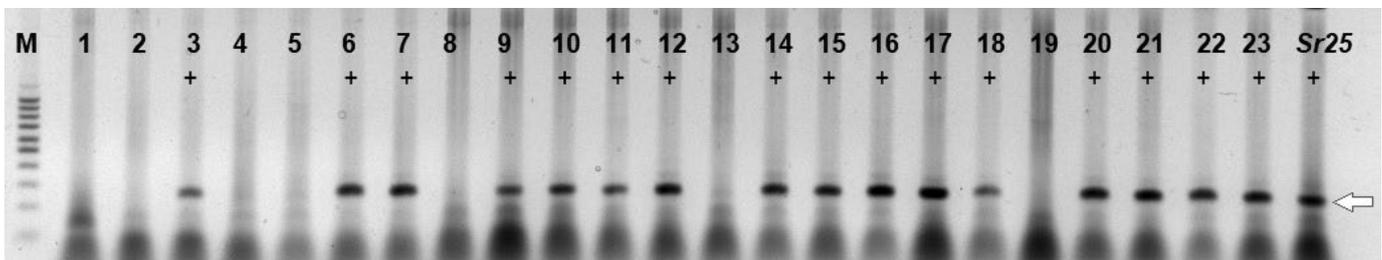


Рисунок 1. Идентификация гена *Sr25* с использованием молекулярного маркера *Gb*.

М – маркер молекулярного веса 50 bp «Fermentas», *Sr25* – положительный контроль (линия LC-SR25-ARS).

Стрелкой указан диагностический фрагмент с молекулярным весом 130 п.о. Продукты амплификации разделяли в 2% агарозном геле. «+» – наличие диагностического фрагмента – 130 п.о.

Figure 1. Identification of the *Sr25* gene using molecular marker *Gb*. М – 50 bp Fermentas molecular weight marker, *Sr25* is a positive control (LC-SR25-ARS line). Arrow indicates a diagnostic fragment with a molecular weight of 130 bp.

Amplification products were separated in a 2% agarose gel. «+» – presence of diagnostic fragment – 130 bp

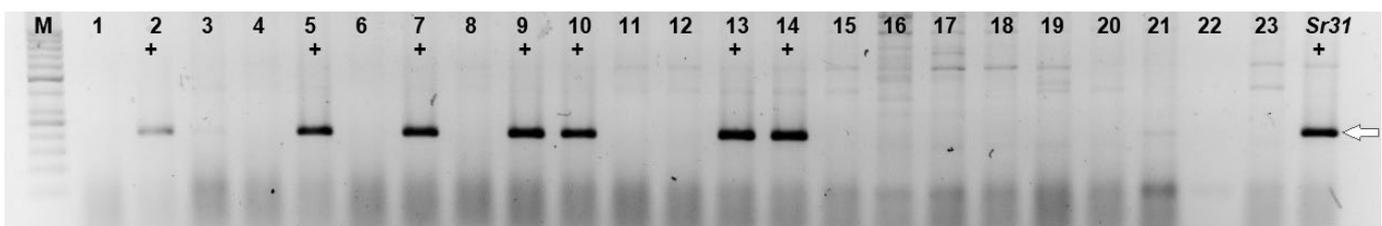


Рисунок 2. Идентификация гена *Sr31* с использованием молекулярного маркера *Scm9*.

М – маркер молекулярного веса 50 bp «Fermentas», *Sr31* – положительный контроль (сорт Аврора). Стрелкой указан диагностический фрагмент с молекулярным весом 207 п.о. Продукты амплификации разделяли в 2% агарозном геле.

«+» – наличие диагностического фрагмента – 207 п.о.

Figure 2. Identification of the *Sr31* gene using the molecular marker *Scm9*. М – 50 bp Fermentas molecular weight marker, *Sr31* – positive control (variety Aurora). The arrow indicates a diagnostic fragment with a molecular weight of 207 bp. The amplification products were separated in a 2% agarose gel. «+» – presence of diagnostic fragment – 207 bp



Рисунок 3. Результаты идентификации *Sr*-генов устойчивости в интродуктивных линиях яровой мягкой пшеницы

Figure 3. Results of identification of *Sr*-genes in introgression lines of spring bread wheat

Всего были идентифицированы следующие сочетания генов устойчивости – сочетание генов *Sr31/Lr26+Sr25/Lr19* было идентифицировано у 38 линий (20.1%). У трех

Анализ устойчивости сортов и линий яровой мягкой пшеницы к стеблевой ржавчине

В настоящей статье мы представляем обобщенные результаты оценки устойчивости сортов и селекционного материала к саратовским популяциям *P. graminis* в вегетационные сезоны 2016–2020 гг.

Степень развития болезни в 2016 году на сортах Фаворит и Воевода достигала 80%, что привело к значимым потерям урожая (Сибикеев, не опубликованные данные). Из 11 взятых в анализ сортов, сорта Саратовская 55, Саратовская 68, Саратовская 70, Саратовская 73, Альбидум 32, были восприимчивы в поле к саратовской популяции возбудителя стеблевой ржавчины в 2016–2020 гг (табл. 2). Сорта Фаворит (*Sr6Agi*) и Воевода (*Sr6Agi*) были гетерогенны в 2019 г и восприимчивы в 2016, 2017, 2018 и 2020 годах. Сорт Добрыня (*Sr25*) был гетерогенен по устойчивости в 2016, 2017 годах, в 2018 и 2019 году был устойчив в поле, а в 2020 году – восприимчив. Сорт Лебедушка (*Sr25+Sr6Agi*) был восприимчив в 2016 году, в 2017 и 2019 – гетерогенен по устойчивости и в 2020 – восприимчив.

линий идентифицировано сочетание генов *Sr38/Lr37+Sr25/Lr19*; у восьми линий идентифицировано сочетание генов *Sr25+Sr28*; у одной линии – *Sr31/Lr26+Sr28+Sr38/Lr37*; у одной линии – *Sr31/Lr26+Sr25/Lr19+Sr28*; у одной линии – гена *Sr25/Lr19* с геном возрастной устойчивости *Sr57/Lr34*. Сочетание генов *Sr25/Lr19+Sr35* было идентифицировано в двух линиях, *Sr22+Sr25/Lr19* – у двух линий. Эти линии были устойчивы к стеблевой ржавчине, что делает их перспективными для дальнейшего использования в селекции. Однако в настоящей статье мы не останавливаемся на анализе линий с генами *Sr22* и *Sr35*, так как это материал для отдельной статьи (Сибикеев и др., в печати).

По результатам лабораторной и полевой оценки устойчивости из 189 линий за все годы исследования выделено 50 интродуктивных линий, высокоустойчивых к стеблевой ржавчине. Устойчивые линии несут в основном комбинации генов *Sr31/Lr26+Sr25/Lr19* и *Sr31/Lr26+Sr6Agi/Lr6Agi*. Как видно это сочетания гена *Sr31* с генами *Sr25* и *Sr6Agi*.

Сорта Прохоровка и Юго-Восточная 2 были гетерогенны по устойчивости в 2016 г, устойчивы в 2017–2019 гг и в 2020 году сорт Прохоровка был гетерогенен по устойчивости, а сорт Юго-Восточная 2 устойчив. В процессе нашего исследования в сортах Прохоровка и Юго-Восточная 2 был идентифицирован ген *Sr31*. Однако при оценке устойчивости к саратовской популяции патогена в этих сортах были выявлены восприимчивые растения (таблица 2).

Возник вопрос о возможном появлении в саратовской популяции патогена патотипов гриба, вирулентных к сортам и линиям с геном *Sr31*. Для подтверждения отсутствия у восприимчивых растений транслокации 1BL.1RS (несущей *Sr31*) была выделена ДНК из 10 индивидуальных зерен пораженного растения сорта Прохоровка и поставлена ПЦР со специфичными праймерами на маркер scm9, выявляющий ржаную транслокацию 1BL.1RS. Диагностический фрагмент 207 п.о. был получен только у контрольного сорта Аврора (носителя *Sr31*), что означает

Таблица 2. Результаты фитопатологического анализа устойчивости и идентификации *Sr*-генов (сорта)
Table 2. Results of phytopathological analysis of resistance and identification of *Sr*-genes (varieties)

Сорта Varieties	Устойчивость к стеблевой ржавчине (полевая оценка) Resistance to stem rust (field estimate) Саратовская популяция <i>P. graminis</i> Saratov population of <i>P. graminis</i>					Идентифицированные <i>Sr</i> гены Identified <i>Sr</i> genes
	2016	2017	2018*	2019*	2020	
	Саратовская 55	S	S	S	S	
Саратовская 68	S	S	S	S	S	-
Саратовская 70	S	S	S	S	S	-
Саратовская 73	S	S	R,S	S	S	-
Альбидум 32	S	S	S	S	S	-
Прохоровка	R/S	R;	R	R	R/S	<i>Sr31/Lr26</i>
Юго-Восточная 2	R/S	R;	R	R	R/MR ⁺	<i>Sr31/Lr26</i>
Добрыня	MR/S	MR,S	R	R	S	<i>Sr25/Lr19</i>
Фаворит	S	S	S	R/S	S	<i>Sr6Agi</i> *
Воевода	S	S	S	R/S	S	<i>Sr6Agi</i> *
Лебедушка	S	MR/S	R/S	R/S	S	<i>Sr25 +Sr6Agi</i> *

*– по данным Сибикеева с соавторами (Sibikeev et al.,2017);

R – устойчивый; MR – среднеустойчивый; S – восприимчивый.

*– according to Sibikeev et al.(2017); R – resistant; MR – moderately resistant; S – susceptible.

отсутствие в данном растении гена *Sr31*. Полученные результаты предполагают гетерогенность сорта и потерю транслокации *IRS.1BL*. Таким образом, было подтверждено, что ген *Sr31* пока сохраняет свою эффективность.

Результаты полевой оценки взятых в анализ интрогрессивных линий в сезоны 2016–2019 гг характеризуют линии как высокоустойчивые к саратовским популяциям *P. graminis*. Однако результаты оценки на устойчивость к стеблевой ржавчине в вегетационном сезоне 2020 года

резко отличалась. Из 158 линий устойчивых к *P. graminis* во время эпифитотии 2016 года, в 2020 году были устойчивы 65 линий (41.1%). Мы считаем, что это произошло за счёт потери эффективности гена *Lr19/Sr25* (восприимчивые линии были защищены только этим геном либо сочетанием *Lr19/Sr25+Sr6Agi*), что подтверждается как результатами анализа вирулентности популяций *P. graminis*, так и поражением стеблевой ржавчиной сортов – носителей данного гена – Добрыни и Лебедушки.

Обсуждение

В лаборатории генетики и цитологии ФГБНУ «ФАНЦ Юго-Востока» на основе использования набора оригинальных устойчивых к патогенам интрогрессивных линий яровой мягкой пшеницы (Сибикеев и др., 2012; Sibikeev, Druzhin 2016; Sibikeev et al., 2016), были получены устойчивые к комплексу патогенов сорта яровой мягкой пшеницы – Белянка, Фаворит, Воевода, с замещением хромосомой пырея промежуточного пшеничной хромосомы *6(D)6Agi* и сорт Лебедушка (комбинация замещения *6(D)6Agi* и *7DS-7DL-7Ae#1L* – транслокации от пырея удлинённого с генами *Sr25/Lr19*).

В Нижнем Поволжье в основном доминируют 23 сорта яровой мягкой пшеницы селекции ФГБНУ «ФАНЦ Юго-Востока», из внесенных в Госреестр по состоянию на 2020 г 25-ти сортов (Государственный реестр селекционных достижений, 2020). По данным Министерства сельского хозяйства Саратовской области в Саратовской области посевная площадь под яровой пшеницей составляет 205583 га, из которых большая часть занята сортами: Саратовская 55 – 8865 га, Саратовская 68 – 7017 га, Саратовская 70 – 10550 га, Саратовская 73 – 6872 га, Альбидум 32 – 10016 га, Фаворит – 18776 га, Прохоровка – 107 га, Юго-Восточная 2 – 155 га, Добрыня – 15286 га, Воевода – 15567 га и Лебедушка – 940 га. Как показывают наши исследования, на сегодняшний день к стеблевой ржавчине из них устойчивы только Прохоровка и Юго-Восточная 2, носители гена *Sr31*.

Поражение стеблевой ржавчиной сортов Фаворит и Воевода во время эпифитотии 2016 года и в последующие годы до настоящего времени, к большому сожалению, показывает потерю эффективности гена *Sr6Agi* для Поволжья. Другой, широко распространенный в яровых

отечественных сортах ген устойчивости к стеблевой ржавчине – *Sr25*.

Ген *Sr25* сцеплен с геном устойчивости к бурой ржавчине *Lr19*. Эта транслокация интродуцирована в мягкую пшеницу от *Agropyron elongatum* (Host) *Beauvois* и может быть локализована в хромосомах 7DL или 7AL. Ген *Sr25* относился до настоящего момента к высокоэффективным генам. Он обеспечивает устойчивость пшеницы к расе *Ug99* и широко используется в селекционных программах (Волуевич, 2013). Среди российских сортов гены *Sr25/Lr19* распространены в сортах пшеницы, выращиваемых в Поволжье, на Урале и в Западной Сибири (Гуляева, 2012; Гуляева и др., 2019). Причем в Западной Сибири *Sr25* и на сегодняшний день представляет интерес для практической селекции (Кельбин и др., 2020).

Однако за рубежом были показаны случаи выявления в популяциях *P. graminis* изолятов, вирулентных к *Sr25*, например, в Индии (Jain et al., 2009), также было показано, что в Эфиопии раса ТКТТФ была вирулентна к линиям с геном *Sr25* (Patroug et al., 2017).

Появление вирулентных к *Sr25* изолятов гриба мы наблюдали при фитопатологическом анализе саратовских популяций возбудителя стеблевой ржавчины с 2016 по 2020 гг. Также была отмечена потеря устойчивости линий с этим геном в лабораторных условиях (Baranova et al., 2019). Анализ полевой устойчивости сортов особенно в вегетационный сезон 2020 г окончательно показал потерю эффективности на территории Поволжья генов устойчивости к стеблевой ржавчине *Sr6Agi* и *Sr25*, что также подтверждается данными по потере устойчивости сортов пшеницы с этими генами при эпифитотии стеблевой ржавчины в Татарстане в 2016 году (Василова, 2017).

Заключение

Таким образом, показано, что устойчивость пшеницы к популяциям *P. graminis* 2016–2020 гг способны обеспечить гены *Sr13*, *Sr26*, *Sr31*, *Sr35* и сочетания генов *Sr24+31*, *Sr36+31* и *Sr26+9g*. По результатам оценки устойчивости из 189 интрогрессивных селекционных линий выделено 50 высокоустойчивых к стеблевой ржавчине. Устойчивые линии несут в основном комбинации гена *Sr31/Lr26* с *Sr25/Lr19* и *Sr6Agi/Lr6Agi*. Ген *Sr31* сохраняет эффективность

против местных популяций *P. graminis*, однако показана потеря эффективности на территории Поволжья как гена от пырея промежуточного *Sr6Agi* так и гена *Sr25*. В связи с этим рекомендуем использовать в селекции на иммунитет к поволжским популяциям стеблевой ржавчины такие эффективные гены как *Sr13*, *Sr26* и *Sr35* в сочетании с геном *Sr31* и эффективными генами устойчивости взрослых растений, такими как *Sr2*.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-016-00170 а.

Библиографический список (References)

Василова Н.З., Асхадуллин Д.Ф., Асхадуллин Д.Ф. (2017) Эпифитотия стеблевой ржавчины на яровой пшенице в Татарстане. *Защита и карантин растений* 2:27–28.
Волкова Г.В., Синяк Е.В. (2011) Эффективные гены устойчивости пшеницы к возбудителю стеблевой ржавчины

пшеницы на юге России. *Наука Кубани* 2:34–36.
Волкова Г.В., Синяк Е.В., Балапанов И.М. (2010) Стеблевая ржавчина пшеницы на Северном Кавказе: распространение, внутривидовая структура и изменчивость по вирулентности. *Наука Кубани* 2:38–41.

- Волуевич Е.А. (2013) Генетические подходы в селекции мягкой пшеницы на устойчивость к стеблевой ржавчине. *Молекулярная и прикладная генетика* 16:72–81.
- Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию (2020) «Сорта растений» (1). Москва: Росинформагротех. 680с.
- Гулятьева Е.И., Шайдаюк Е.Л., Рсалиев А.С. (2019) Идентификация генов устойчивости к бурой ржавчине у образцов яровой мягкой пшеницы российской и казахстанской селекции. *Вестник защиты растений* 3(101):41–49. [http://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-3\(101\)-41-49](http://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-3(101)-41-49)
- Гулятьева Е.И. (2012) Методы идентификации генов устойчивости пшеницы к бурой ржавчине с использованием ДНК-маркеров и характеристика эффективности Lr-генов. Санкт-Петербург: ВИЗР. 72 с.
- Кельбин В.Н., Сколотнева Е.С., Салина Е.А. (2020) Возможности и перспективы формирования генетической защиты мягкой пшеницы от стеблевой ржавчины в Западной Сибири. *Вавиловский журнал генетики и селекции* 24(8):821–828. <http://doi.org/10.18699/VJ20.679>
- Койшыбаев М., Муминджанов Х (2016) Методические указания по мониторингу болезней, вредителей и сорных растений на посевах зерновых культур. Анкара: Продовольственная и сельскохозяйственная организация Объединенных Наций: 28с.
- Койшыбаев М. (2017) Особенности развития ржавчины и септориоза на яровой пшенице в северном казахстане. *Защита и карантин растений* 11:21–24.
- Сибикеев С.Н., Дружин А.Е., Крупнов В.А. (2012) Увеличение генетического разнообразия саратовских пшениц методом интрогрессивной селекции как развитие идей Н.И. Вавилова. *Вестник Саратовского государственного университета им. Н.И. Вавилова* 10:33–37.
- Ayala-Navarrete L., Bariana H.S., Singh R.P., Gibson J.M. et al. (2007) Trigenomic chromosomes by recombination of *Thinopyrum intermedium* and *Th. ponticum* translocations in wheat. *Theor Appl Genet* 116:63–75. <https://doi.org/10.1007/s00122-007-0647-5>
- Baranova O.A., Sibikeev S.N., Druzhin A.E. (2019) Molecular identification of the stem rust resistance genes in the introgression lines of spring bread wheat. *Vavilov Genet and Breeding J* 23(3):296–303. <https://doi.org/10.18699/VJ19.494>
- Bhattacharya S. (2017) Deadly new wheat disease threatens Europe's crops. *Nature* 542(7640):145–146. <https://doi.org/10.1038/nature.2017.21424>.
- Helguera M., Khan I.A., Kolmer J., Lijavetzky D. et al. (2003) PCR assays for the Lr37-Yr17-Sr38 cluster of rust resistance genes and their use to develop isogenic hard red spring wheat lines. *Crop Sci* 43:1839–1847
- Jain S.K., Prashar M., Bhardwaj S.C., Singh S.B., Sharma Y.P. (2009) Emergence of Virulence to *Sr25* of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* on Wheat in India. *Plant Dis* <https://doi.org/10.1094/PDIS-93-8-0840B>
- Jin Y., Singh R.P., Ward R.W., Wanyera R. et al. (2007) 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 Dis* 91:1096–1099
- Jin Y., Singh R.P., Ward R.W., Wanyera R., Kinyua M., Njau P., Fetch T., Pretorius Z.A. and Yahyaoui A. (2007) 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 Dis* 91:1096–1099
- Lagudah E.S., McFadden H., Singh R.P., Huerta-Espino J. et al. (2006) Molecular genetic characterization of the *Lr34/Yr18* slow rusting resistance gene region in wheat. *Theor Appl Genet* 114:21–30
- Mago R., Bariana H.S., Dundas I.S., Spielmeyer W. et al. (2005) Development of PCR markers for the selection on wheat stem rust resistance genes *Sr24* and *Sr26* in diverse wheat germplasm. *Theor Appl Genet* 111:496–504. <https://doi.org/10.1007/s00122-005-2039-z>
- Mago R, Simkova H, Brown-Guedira G, Dreisigacker S, et al. (2011) An accurate DNA marker assay for stem rust resistance gene *Sr2* in wheat. *Theor Appl Genet* 122:735–744. <https://doi.org/10.1007/s00122-010-1482-7>
- Mago R, Verlin D, Zhang P, Bansal U et al. (2013) Development of wheat–*Aegilops speltoides* recombinants and simple PCR-based markers for *Sr32* and a new stem rust resistance gene on the 2S#1 chromosome. *Theor Appl Genet* 126:2943–2955. <https://doi.org/10.1007/s00122-013-2184-8>
- Murray M.G., Thompson W.F. (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Res*:4321–4325.
- Olivera P., Newcomb M., Flath K., Sommerfeldt N. et al. (2017) Characterization of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* isolates derived from an unusual wheat stem rust outbreak in Germany in 2013. British Society for Plant Pathology. <https://doi.org/10.1111/ppa.12674>
- Roelfs A.P., Singh R.P. (1992) Rust diseases of wheat concepts and methods of management. Mexico: CIMMIT.
- Rouse M.N., Nava I.C., Chao S., Anderson J.A. et al. (2012) Identification of markers linked to the race Ug99 effective stem rust resistance gene *Sr28* in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet* 125:877–885. <https://doi.org/10.1007/s00122-012-1879-6>
- Sibikeev S.N., Druzhin A.E. (2016) 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. *Russian Genet J: Applied Res* 3:338–343. <https://doi.org/10.1134/S2079059716030126>
- Sibikeev S.N., Voronina S.A., Druzhin A.E., Badaeva E.D. (2016) Study of resistance to leaf and stem rust in *Triticum aestivum* – *Aegilops speltoides* lines. *Russian Genet J: Applied Res* 6(4):351–356. <https://doi.org/10.1134/S2079059716040183>
- Sibikeev S.N., Druzhin A.E., Vlasovec L.T., Golubeva T.D. et al. (2017) The reaction of introgression lines of spring bread wheat to leaf rust, stem rust and tan spot in 2016. *Annual W News/KSU USA* 63:57–58.
- Stakman E.C., Stewart D.M., Loegering W.Q. (1962) Identification of physiologic races of *Puccinia graminis* var. *tritici*. United States Department of Agriculture – Agricultural Research Service E-617 (rev).
- Tsilo T.J., Jin Y., Anderson J.A. (2008) Diagnostic microsatellite markers for detection of stem rust resistance gene *Sr36* in diverse genetic backgrounds of wheat. *Crop Sci* 48:253–261. <https://doi.org/10.2135/cropsci2007.04.0204>
- Weng Y, Azhaguvel P, Devkota R.N., Rudd J.C. (2007) PCR-based markers for detection of different sources of 1AL.1RS and 1BL.1RS wheat–rye translocations in wheat background. *Plant Breed* 126:482–486. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2007.01331.x>

- Wulf B.B.H. and Moscou J.M. (2014) Strategies for transferring resistance into wheat: from wide crosses to GM cassettes. *Front Plant Sci* 5:692. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00692>
- Zhang W, Olson E, Sainetac C, Rouse M et al (2010) Genetic maps of stem rust resistance gene *Sr35* in diploid and hexaploid wheat. *Crop Sci* 50:2464–2474. <https://doi.org/10.2135/cropsci2010.04.0202Trans>
- Generalized Protocol for Race Analysis – Seedling Assays. http://www.fao.org/fileadmin/templates/rust/img/race_analysis_web.pdf (08.06.2021)

Translation of Russian References

- Gulyaeva E.I. (2012) Methods of identification of wheat resistance genes to leaf rust using DNA-markers and characterization of *Lr*-gene efficiency. Saint-Petersburg: VIZR: 72 p. (In Russian)
- Gulyaeva E.I., Shaydayuk E.L., Rsaliev A.S. (2019) Identification of leaf rust resistance genes in spring soft wheat samples developed in Russia and Kazakhstan. *Plant Protection News* (3):41–49 (In Russian) [https://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-3\(101\)-41-49](https://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-3(101)-41-49)
- Kelbin V.N., Skolotneva E.S., Salina E.A. (2020) Challenges and prospects for developing genetic resistance in common wheat against stem rust in Western Siberia. *Vavilov Genet and Breeding J* 24(8):821–828 (In Russian) <https://doi.org/10.18699/VJ20.679>
- Koishybaev M., Muminjanov H. (2016) Methodological guidelines for monitoring diseases, pests and weeds in cereal crops. Ankara: Food and Agriculture Organization of the United Nations. 28p.
- Koishybayev M. (2017) Features of the development of rust and Septoria leaf spot on spring wheat in Northern Kazakhstan. *Zashchita i karantin rasteniy* 11:21–24 (In Russian)
- State Register of Breeding Achievements Approved for Use (2020) Plant Varieties. Moscow: FGBNU Rosinformagrotech (1): 680 p. (In Russian)
- Vasilova N.Z., Askhadullin D.F., Askhadullin D.F. (2017) Stem rust epiphytotic on soft spring wheat in Tatarstan. *Zashchita i karantin rasteniy* 2:27–28 (In Russian)
- Volkova G.V., Sinyak E.V. (2011) Effective genes of wheat resistance to the causative agent of wheat stem rust in the south of Russia. *Nauka Kubani* 2:34–36. (In Russian)
- Volkova G.V., Sinyak E.V., Balapanov I.M. (2010) Stem rust of wheat in the North Caucasus: distribution, intrapopulation structure and virulence variability. *Nauka Kubani* 2:38–41. (In Russian)
- Volujevich E.A. (2013) Genetic approaches in breeding soft wheat for resistance to stem rust. *Molec and Appl Genet* 16:72–81 (In Russian)

Plant Protection News, 2021, 104(2), p. 105–112

OECD+WoS: 4.01+AM (Agronomy)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2021-104-2-14994>

Full-text article

LOSS OF EFFECTIVENESS OF STEM RUST RESISTANCE GENES *SR25* AND *SR6AGI* IN THE LOWER VOLGA REGION

O.A. Baranova^{1*}, S.N. Sibikeev², A.E. Druzhin², I.D. Sozina¹

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

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

*corresponding author, e-mail: baranova_oa@mail.ru

Wheat is one of the most important food crops in Russia. Rust diseases (leaf, yellow and stem rusts) are particularly dangerous diseases of wheat that threaten food security. The stem rust, caused by a biotrophic fungus *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* is the most dangerous, as crop losses reach 50 to 80% or more. The paper presents results of the analysis of resistance to stem rust in 189 introgressive lines of spring soft wheat selected at the Federal Agrarian Scientific Center of South East and in 11 varieties cultivated in the Lower Volga region during the growing seasons of 2016–20. The results of phytopathological assessment of virulence of the Saratov pathogen population in 2016–2020 are also given. It is shown that *Sr13*, *Sr26*, *Sr31*, *Sr35* and combinations of *Sr24+31*, *Sr36+31* and *Sr26+9g* genes cause wheat resistance to Saratov populations of *P. graminis* 2016–2020. No isolates virulent to the line with the *Sr31* gene were identified during the research period. Analysis of resistance in wheat varieties and lines showed a loss of *Sr6Agi* gene efficacy beginning 2016 and a gradual loss of *Sr25* efficacy by 2020. In 2020, varieties carrying the *Sr25* gene (Lebedushka and Dobrynya) and lines with this gene affected the Saratov population of stem rust both under laboratory conditions using experimental infection and under field conditions using the natural infection background. In the analyzed 189 introgressed lines, *Sr25/Lr19* (77.2%) and *Sr31/Lr26* (22.2%) were the main identified genes, although *Sr22*, *Sr35*, *Sr28*, *Sr38/Lr37* and *Sr57/Lr34* genes were also found. Fifty lines carrying the combination of *Sr31* with *Sr25/Lr19* and *Sr6Agi* were identified as highly resistant to the stem rust. Thus, it was shown that in Volga region, *Sr31* gene was effective against *P. graminis* populations, while *Sr6Agi* and *Sr25* genes lost their effectiveness.

Keywords: spring bread wheat; introgression lines; *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*; *Sr*-genes

Submitted: 18.04.2021

Accepted: 09.06.2021