

DOI 10.18699/vjgb-24-43

Молекулярно-цитогенетическая характеристика новых интрогрессивных линий яровой мягкой пшеницы, устойчивых к стеблевой ржавчине

О.А. Баранова ¹, И.Г. Адонина ², С.Н. Сибикеев ³¹ Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия² Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия³ Федеральный аграрный научный центр Юго-Востока, Саратов, Россия baranova_oa@mail.ru

Аннотация. Опережающая селекция пшеницы на устойчивость к патогенам – залог предотвращения экономически значимых потерь урожая от болезней. В последние годы в основных зернопроизводящих областях Российской Федерации наблюдается увеличение вредоносности опасного заболевания пшеницы – стеблевой ржавчины (возбудитель *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*). В то же время сохраняется опасность заноса на территорию России расы патогена Ug99 (ТТКСК), которая угрожает производству зерна во всем мире. В связи с этим большое значение приобретают перенос эффективных генов резистентности от родственных видов в селекционный материал мягкой пшеницы, выявление хромосомной локализации интрогрессий и проведение маркерного анализа для идентификации известных генов устойчивости. В настоящей работе был проведен комплексный анализ десяти интрогрессивных линий яровой мягкой пшеницы селекции Федерального аграрного научного центра Юго-Востока (Л657, Л664, Л758, Л935, Л960, Л968, Л971, Л995/1, Л997 и Л1110), полученных с участием *Triticum dicoccum*, *T. timopheevii*, *T. kiharae*, *Aegilops speltoides*, *Agropyron elongatum* и *Secale cereale*. Оценка интрогрессивных линий в полевых условиях на устойчивость к расе Ug99 (ТТКСК) показала, что четыре линии были иммунны, две – устойчивы, три – среднеустойчивы, а одна имела промежуточный тип реакции на заражение. Цитогенетический анализ с помощью методов флуоресцентной (FISH) и геномной (GISH) гибридизации *in situ* выявил интрогрессии от *Ae. speltoides* (линия Л664), *T. timopheevii* (линии Л758, Л971, Л995/1, Л997 и Л1110), *Thinopyrum ponticum* = *Ag. elongatum* ($2n = 70$) (Л664, Л758, Л960, Л971, Л997 и Л1110), а также интрогрессии от *T. dicoccum* (Л657 и Л664), *T. kiharae* (Л960) и *S. cereale* (Л935 и Л968). Для идентификации известных генов устойчивости (*Sr2*, *Sr25*, *Sr32*, *Sr1A.1R*, *Sr36*, *Sr38*, *Sr39* и *Sr47*) использовали молекулярные маркеры, рекомендованные для маркер-ориентированной селекции. Наличие генов *Sr36* и *Sr25* было постулировано у двух линий (Л997 и Л1110), генов *Sr39*, *Sr25* и *Sr47* – у линии Л664. У линий Л935 и Л968 с замещением 3D(3R) от *S. cereale* ген устойчивости к стеблевой ржавчине предположительно определен как *SrSatu*. Высокоустойчивые как к местным популяциям *P. graminis*, так и к расе Ug99 линии мягкой пшеницы являются перспективными донорами для создания новых устойчивых к стеблевой ржавчине сортов.


Ключевые слова: *Triticum aestivum* L.; интрогрессивные линии пшеницы; чужеродные интрогрессии; *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*; Ug99; *Sr* гены.

Для цитирования: Баранова О.А., Адонина И.Г., Сибикеев С.Н. Молекулярно-цитогенетическая характеристика новых интрогрессивных линий яровой мягкой пшеницы, устойчивых к стеблевой ржавчине. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2024;28(4):377-386. DOI 10.18699/vjgb-24-43

Финансирование. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 22-26-00172 «Биологическое обоснование генетической защиты пшеницы от стеблевой ржавчины на территории Поволжья». Цитологический анализ выполнен в ЦКП микроскопического анализа биологических объектов СО РАН при поддержке бюджетного проекта FWN-2022-0017.

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

Molecular cytogenetic characteristics of new spring bread wheat introgressive lines resistant to stem rust

О.А. Baranova ¹, I.G. Adonina ², S.N. Sibikeev ³¹ All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg-Pushkin, Russia² Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia³ Federal Center of Agricultural Research of the South-East Region, Saratov, Russia baranova_oa@mail.ru

Abstract. Anticipatory wheat breeding for pathogen resistance is key to preventing economically significant crop losses caused by diseases. Recently, the harmfulness of a dangerous wheat disease, stem rust, caused by *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*, was increased in the main grain-producing regions of the Russian Federation. At the same time, importation

of the Ug99 race (TTKSK) is still a possibility. In this regard, the transfer of effective resistance genes from related species to the bread wheat breeding material followed by the chromosomal localization of the introgressions and a marker analysis to identify known resistance genes is of great importance. In this work, a comprehensive analysis of ten spring bread wheat introgressive lines of the Federal Center of Agricultural Research of the South-East Region (L657, L664, L758, L935, L960, L968, L971, L995/1, L997 and L1110) was carried out. These lines were obtained with the participation of *Triticum dicoccum*, *T. timopheevii*, *T. kiharae*, *Aegilops speltoides*, *Agropyron elongatum* and *Secale cereale*. In this study, the lines were evaluated for resistance to the Ug99 race (TTKSK) in the Njoro, Kenya. Evaluation of introgression lines in the field for resistance to the Ug99 race (TTKSK) showed that four lines were immune, two were resistant, three were moderately resistant, and one had an intermediate type of response to infection. By cytogenetic analysis of these lines using fluorescent (FISH) and genomic (GISH) *in situ* hybridization, introgressions from *Ae. speltoides* (line L664), *T. timopheevii* (lines L758, L971, L995/1, L997 and L1110), *Thinopyrum ponticum* = *Ag. elongatum* ($2n = 70$) (L664, L758, L960, L971, L997 and L1110), as well as introgressions from *T. dicoccum* (L657 and L664), *T. kiharae* (L960) and *S. cereale* (L935 and L968) were detected. Molecular markers recommended for marker-oriented breeding were used to identify known resistance genes (*Sr2*, *Sr25*, *Sr32*, *Sr1A.1R*, *Sr36*, *Sr38*, *Sr39* and *Sr47*). The *Sr36* and *Sr25* genes were observed in lines L997 and L1110, while line L664 had the *Sr39+Sr47+Sr25* gene combination. In lines L935 and L968 with 3R(3D) substitution from *S. cereale*, gene resistance was presumably identified as *SrSatu*. Thus, highly resistant to both local populations of *P. graminis* and the Ug99 race, bread wheat lines are promising donors for the production of new varieties resistant to stem rust.

Key words: *Triticum aestivum* L.; introgressive wheat lines; alien introgressions; *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*; Ug99; *Sr* genes.

For citation: Baranova O.A., Adonina I.G., Sibikeev S.N. Molecular cytogenetic characteristics of new spring bread wheat introgressive lines resistant to stem rust. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2024;28(4):377-386. DOI 10.18699/vjgb-24-43

Введение

Одним из условий повышения урожайности мягкой пшеницы является создание сортов, устойчивых к биотическим и абиотическим стрессорам. В набор наиболее вредоносных биострессоров для мягкой пшеницы входит группа возбудителей ржавчинных заболеваний: *Puccinia triticina* f. sp. *tritici* Erikss., *P. striiformis* f. sp. *tritici* Erikss., *P. graminis* f. sp. *tritici* Erikss. & Henning. Эти возбудители вызывают эпифитотии бурой, желтой и стеблевой ржавчины. Вредоносность каждой из них может достигать 50 % (Knott, 1989). Возбудители данных заболеваний характеризуются высокой вирулентностью и большим разнообразием по расовому составу (Gulyaeva et al., 2021, 2022; Baranova et al., 2023).

В мировом производстве мягкой пшеницы и в условиях России отдельное место занимает стеблевая ржавчина (возбудитель *P. graminis* f. sp. *tritici* (*Pgt*)), способная вызвать потери урожая выше 80 % при эпифитотийном развитии на восприимчивых сортах. Широко известная раса возбудителя стеблевой ржавчины Ug99 (TTKSK) и ее разновидности, поражающие сорта и линии пшеницы с эффективными генами устойчивости *Sr31*, *Sr36* и *Sr24*, до сих пор представляют реальную угрозу производству пшеницы в регионах Африканского континента, странах Ближнего Востока и Азии. В связи с возможностью распространения спор гриба с воздушными массами на огромные расстояния остается угроза заноса патогена на территорию стран Евразии, в том числе в Россию. За последнее десятилетие в Европе, Казахстане, Китае и Российской Федерации появились агрессивные расы гриба, не относящиеся к разновидностям Ug99, но вызвавшие сильнейшие вспышки заболевания (Василова и др., 2017; Lewis et al., 2018; Баранова и др., 2021; Patroux et al., 2022).

Низкое разнообразие по генам устойчивости к стеблевой ржавчине является общей проблемой коммерческих сортов пшеницы во всем мире. В отечественных сортах используется ген возрастной устойчивости *Sr57* (*Lr34/Yr18/Pm38/Bdv1*), входящий в локус с плейотропным дей-

ствием, детерминирующий неспецифическую устойчивость к биотрофным патогенам, а также гены ювенильной устойчивости, такие как *Sr38*, *Sr6Agi*, *Sr25* и *Sr31*. Ген *Sr31* пока сохраняет эффективность против стеблевой ржавчины на территории Российской Федерации (Baranova et al., 2023). *Sr6Agi* и *Sr25* теряют эффективность на территории Поволжья, но эффективны против западносибирских популяций гриба (Кельбин и др., 2020; Баранова и др., 2021). Ген *Sr38* неэффективен против поволжских популяций патогена, но рекомендуется для селекции в условиях Западной Сибири (Сколотнева и др., 2021).

Для расширения генетической основы сортов чрезвычайно актуально получить селекционный материал, разнообразный по генам устойчивости. В целом эта проблема решается с привлечением родственных видов мягкой пшеницы, в основном из вторичного и третичного генпулов. В настоящее время из 63 генов устойчивости к стеблевой ржавчине 26 перенесены из геномов родственных видов (McIntosh et al., 2013, 2022). Для практической селекции мягкой пшеницы виды *Ae. speltoides*, *T. timopheevii*, *T. dicoccum*, *T. ponticum*, *S. cereale* остаются важными источниками ценных генов устойчивости к грибным болезням, и в частности к стеблевой ржавчине (McIntosh et al., 2013). От *Aegilops speltoides* (Taush) ($SS, 2n = 14$) в геном пшеницы перенесены гены *Sr32*, *Sr39*, *Sr47*, от *Triticum timopheevii* Zhuk. ($A^1A^1GG, 2n = 28$) – *Sr36*, *Sr37*, *Sr40*, от *Secale cereale* L. ($RR, 2n = 14$) – *Sr31*, *Sr27*, *Sr1A.1R*, *Sr50* (McIntosh et al., 2013). Важными моментами использования этих генов для создания устойчивых сортов мягкой пшеницы являются их эффективность против *P. graminis*, а также характер и размер интрогрессированного материала. Актуально создание комбинаций из эффективных на данный момент *Sr* генов между собой или с генами, частично потерявшими свою эффективность, либо с генами возрастной устойчивости.

В Федеральном аграрном научном центре Юго-Востока (ФАНЦ Юго-Востока) ведется работа по созданию нового селекционного материала с привлечением сородичей

Таблица 1. Родословная интрогрессивных линий яровой мягкой пшеницы

Номер линии	Родословная	Источник чужеродного генетического материала
Л657	Л505*2//Л503/3/Л528//Ад <i>T.dic/Ae.spelt*</i> 5C29/4/Thatcher Lr28	<i>Triticum dicoccum</i> Shuebl (BA), <i>Aegilops speltoides</i> Tausch (S)
Л664	С55//Добр/Л164//Agr139/Л528*2//Ад <i>T.dic/Ae.spelt*</i> 5C29//Добр	<i>T. dicoccum</i> Shuebl (BA), <i>Ae. speltoides</i> Tausch (S), <i>Agropyron elongatum</i> (Host) Beauv. (источник – сорт Добрыня как носитель транслокации 7DS-7DL-7Ae#1L)
Л758	Л XI C29 им/Л2870	<i>T. timopheevii</i> , <i>Ae. tauschii</i> (источник – иммунные линии сорта Саратовская 29 (C29 им))
Л935	Satu/C70//C70	<i>Secale cereale</i> L. (R) (источник – сорт тритикале Satu)
Л960	С68/ <i>T.kiharae</i> //C70/3/C68	<i>T. kiharae</i> Dorof. et Migusch ((GA ¹ D)
Л968	Satu/C70//C74/3/C70/4/C70	<i>S. cereale</i> L. (R), сорт тритикале Satu
Л971	С68/ <i>T.timopheevii</i> *4//Добр	<i>T. timopheevii</i> Zhuk. (GA ¹), <i>Ag. elongatum</i> (Host) Beauv. (источник – сорт Добрыня, транслокация 7DS-7DL-7Ae#1L)
Л995/1	С70/Памяти Майстренко//С68	<i>T. timopheevii</i> и <i>Ae. tauschii</i> (источник – сорт Памяти Майстренко)
Л997	С70/Памяти Майстренко//Добрыня	<i>T. timopheevii</i> и <i>Ae. tauschii</i> (источник – сорт Памяти Майстренко); <i>Ag. elongatum</i> (Host) Beauv. – источник транслокации 7DS-7DL-7Ae#1L сорт Добрыня
Л1110	Л VI C29 им/Л2032//Л2032/3/Л2032	<i>T. timopheevii</i> , <i>Ae. tauschii</i> (источник – иммунные линии сорта Саратовская 29 (C29 им)); <i>Ag. elongatum</i> (Host) Beauv. – транслокация Л2032 7DS-7DL-7Ae#1L от <i>Ag. elongatum</i> (Host) Beauv.

Примечание. В родословных линиях указаны сорта яровой мягкой пшеницы Л503, Л505, Добрыня (Добр), Саратовская 29 (C29), Саратовская 55 (С55), Саратовская 68 (С68), Саратовская 70 (С70), Саратовская 74 (С74), а также линии яровой мягкой пшеницы Л164, Л528, Л2870, Л2032, Agr139, Л VI C29 им, Л XI C29 им.

мягкой пшеницы. Ранее линии, созданные с участием широкого набора видов, показали высокую устойчивость к бурой ржавчине в условиях саратовского Поволжья (Гульятеева и др., 2020). Цель нашей работы – комплексное изучение новых интрогрессивных линий, включающее в себя оценку устойчивости к расе стеблевой ржавчины Ug99 (ТТКСК), хромосомную локализацию чужеродных интрогрессий и идентификацию генов *Sr* с использованием молекулярных маркеров.

Материалы и методы

Растительный материал. Изучено десять интрогрессивных линий яровой мягкой пшеницы ФАНЦ Юго-Востока. Их родословная с указанием донора чужеродного генетического материала приведена в табл. 1.

Цитогенетический анализ. Препараты митотических хромосом готовили из меристемы корней проростков в соответствии с методикой (Badaeva et al., 2017). Для анализа кариотипа линий применяли метод FISH (флуоресцентная *in situ* гибридизация) с использованием зондов на основе различных повторяющихся последовательностей: Spelt1 (Салина и др., 1997) и Spelt52 (Salina et al., 2004), pSc119.2 (Bedbrook et al., 1980) и arAs1 (Rayburn, Gill, 1986). Для FISH применяли методику, описанную в работе (Salina et al., 2006), с незначительными модификациями. GISH (геномная *in situ* гибридизация) с использованием меченой геномной ДНК *S. cereale* в качестве зонда проводили в соответствии с ранее опубликованной работой (Schubert et al., 1998). Препараты анализировали с помощью микроскопа Axio Imager M1 (Zeiss, Германия), оснащенного цифровой камерой ProgRes MF CCD и программным обеспечением Isis (Meta Systems, Германия).

Фитопатологический анализ. Анализ на устойчивость к расе Ug99 (ТТКСК) проводился на стадии взрослых растений по модифицированной шкале Кобба (Peterson

et al., 1948) в 2023 г. в фитопатологических питомниках на базе International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT) в Кенийском научно-исследовательском учреждении в области сельского хозяйства и животноводства (KALRO) в Нжоро (Njoro). Основным отличительным признаком патотипов расы Ug99 является вирулентность к носителям гена *Sr31*. Степень поражения сортов с геном *Sr31* в фитопатологических питомниках KALRO в вегетационный сезон 2023 г. составила: для сорта Прохоровка (*Sr31*) – 60 % (60MSS), сорта Юго-Восточная 2 (*Sr31*) – 80 % (80S), сорта Саратовская 74 (без *Sr* генов) – 80 % (80S).

Молекулярно-генетический анализ. ДНК выделяли из пятидневных проростков пшеницы с использованием цетилтриметиламмония бромида (СТАВ метод) (Murray, Thompson, 1980). Для идентификации генов устойчивости *Sr2*, *Sr32*, *Sr1A*, *IR*, *Sr36*, *Sr38*, *Sr39*, *Sr47* применяли ДНК-маркеры, рекомендованные для маркер-ориентированной селекции (MAS). Список использованных в работе молекулярных маркеров со ссылками на источники представлен в Приложении 1¹. ПЦР проводили в двух повторностях на термоциклерах С1000 Thermal Cycler (производство BioRad). Продукты амплификации разделяли в 2 % агарозных и 8 % полиакриламидных гелях, окрашенных бромистым этидием. Положительным контролем служили изогенные линии и сорта с известными генами *Sr*, негативным – восприимчивый сорт Хакасская. Для контроля на контаминацию брали ПЦР смесь без добавления ДНК. В качестве маркера молекулярного веса применяли GeneRuler™ 50bp DNA Ladder (Thermo Scientific). Визуализацию продуктов амплификации осуществляли с помощью геледокументирующей системы ChemiDoc™ (Bio-Rad).

¹ Приложения 1–5 см. по адресу: <https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2024-28/appx14.pdf>

Результаты

Фитопатологический анализ

интрогрессивных линий яровой мягкой пшеницы

Фитопатологический скрининг линий на стадии взрослых растений показал, что все линии в разной степени были устойчивы к расе Ug99: четыре линии были иммунны (тип реакции 0), две – устойчивы (R), три – среднеустойчивы (MR) к этой высокоагрессивной расе гриба (табл. 2). Исключение составляла только одна линия – Л995/1, которая при развитии болезни 5 % имела промежуточный тип реакции (M).

Цитогенетический анализ

интрогрессивных линий яровой мягкой пшеницы

Целью цитогенетического анализа интрогрессивных линий было выявление чужеродного генетического материала и определение его состояния в реконструированном геноме мягкой пшеницы – в виде дополненных или замещенных хромосом и транслокаций.

Основные результаты цитогенетического анализа представлены в табл. 2 и на рисунке. Дополнительная информация с указанием использованных комбинаций зондов приведена в Приложении 2.

Кариотипирование линий показало, что каждая из них характеризуется стандартным для гексаплоидной пшеницы числом хромосом – 42. Для каждой из десяти линий была проведена FISH с зондами pSc119.2 и pAs1. Зонд pSc119.2 (Bedbrook et al., 1980) преимущественно локализуется на хромосомах генома В мягкой пшеницы, а pAs1 (Rayburn, Gill, 1986) – на хромосомах генома D. Одновременное использование этих зондов позволяет идентифицировать все хромосомы геномов В и D и некоторые хромосомы генома А (Schneider et al., 2003). Кроме того, по локализации сигналов гибридизации с зондом pSc119.2 можно идентифицировать хромосомы генома G *T. timopheevii* (Jiang, Gill, 1994). Для анализа двух линий, у которых в родословной присутствовала рожь, применялась GISH с ДНК *S. cereale*. Анализ восьми линий, у которых в родословных были представлены *Ae. speltoides*, *T. timopheevii* или *T. kiharae*, включал в себя гибридизацию с зондами Spelt1 и Spelt52 (выполнение GISH с ДНК этих видов затруднено из-за их близкого родства с мягкой пшеницей).

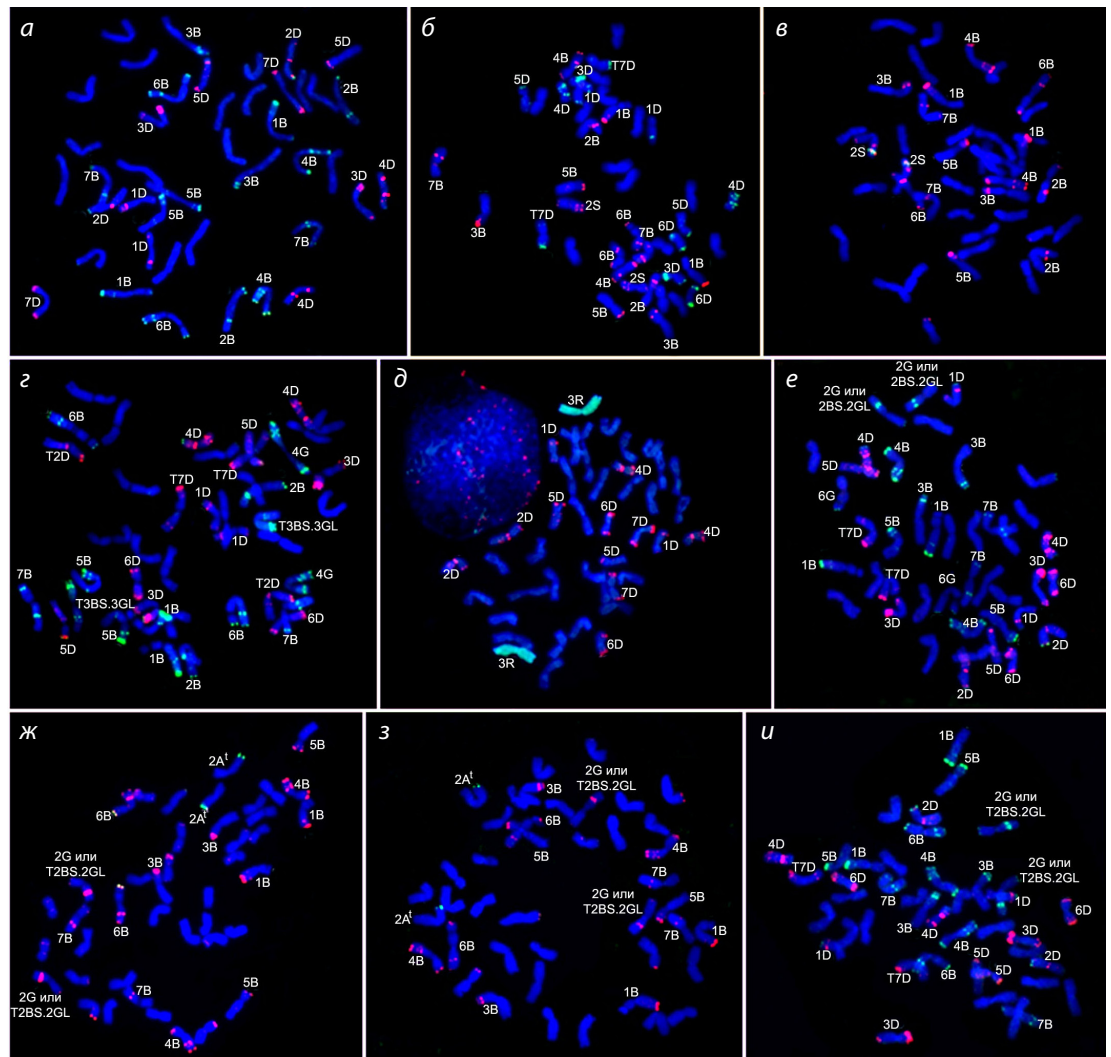
Линии Л657 и Л664 были получены с участием *Ae. speltoides*. У линии Л657 сайты повтора Spelt52 не выявлены, а зонд Spelt1 локализуется на концах плеч хромосомы 6В. По данным предыдущих исследований, такая локализа-

Таблица 2. Характеристика интрогрессивных линий яровой мягкой пшеницы по транслокациям/замещениям, Sr генам и устойчивости к стеблевой ржавчине (Ug99) на стадии взрослых растений

Линия	Результат цитогенетического исследования	Идентифицированные Sr гены*	Устойчивость к <i>P. graminis</i> f. sp. <i>tritici</i> раса Ug99 (ТТКСК)**
Л657	6A ^{T.dicoccum} (6D)	–	5RMR
Л664	2A ^{T.dicoccum} (2A) или T2AS.2A ^{T.dicoccum} L 2S(2D) – от <i>Ae. speltoides</i> Транслокация от <i>Th. ponticum</i> в 7DL	Sr25, Sr39, Sr47	5RMR
Л758	T2A ^L .2A – от <i>T. timopheevii</i> Транслокация от <i>Th. ponticum</i> в 7DL	Sr25	5R
Л935	3R(3D) – от <i>S. cereale</i>	–	0
Л960	2A ^L (2A) – от <i>T. kiharae</i> T3BS.3GL – от <i>T. kiharae</i> 4G(4B) – от <i>T. kiharae</i> T2D ^(T.aestivum) S.2D ^(T.kiharae) L Транслокация от <i>Th. ponticum</i> в 7DL	Sr25	5MR
Л968	3R(3D) – от <i>S. cereale</i>	–	0
Л971	2A ^L (2A) – от <i>T. timopheevii</i> 2G(2B) или T2BS.2GL – от <i>T. timopheevii</i> 6G(6B) – от <i>T. timopheevii</i> Транслокация от <i>Th. ponticum</i> в 7DL	Sr25	5R
Л995/1	2A ^L .2A – от <i>T. timopheevii</i> 2G(2B) или T2BS.2GL – от <i>T. timopheevii</i>	–	5M
Л997	2A ^L .2A – от <i>T. timopheevii</i> 2G(2B) или T2BS.2GL – от <i>T. timopheevii</i> Транслокация от <i>Th. ponticum</i> в 7DL	Sr25, Sr36	0
Л1110	2A ^L .2A – от <i>T. timopheevii</i> 2G(2B) или T2BS.2GL – от <i>T. timopheevii</i> Транслокация от <i>Th. ponticum</i> в 7DL	Sr25, Sr36	0

* Представлены гены, идентификация которых подтверждена цитогенетически и анализом родословных; ген Sr25 идентифицирован ранее (Баранова и др., 2023).

** Устойчивость: 0 – иммунный тип, R – устойчивый, MR – среднеустойчивый, RMR – промежуточный тип реакции между устойчивостью и средней устойчивостью, M – промежуточный тип реакции между средней устойчивостью и средней восприимчивостью.



Результаты FISH и GISH с разными комбинациями зондов на метафазных хромосомах интрогрессивных линий мягкой пшеницы.

Зонды pSc119.2 (зеленый), pAs1 (красный): а – линия Л657, б – Л664, г – Л960, е – Л971, и – Л1110; зонды Spelt52 (зеленый), pSc119.2 (красный): в – Л664, з – Л997; зонды Spelt1 (зеленый), pSc119.2 (красный): ж – Л997; ДНК ржи (зеленый), pAs1 (красный): д – линия Л968.

ция *Spelt1* встречается у сортов мягкой пшеницы (Salina et al., 2006). Следовательно, с уверенностью говорить о транслокациях от *Ae. speltoides* у этой линии мы не можем. FISH с зондом pAs1 показала отсутствие у линии Л664 хромосом 2D и выявила пару хромосом со слабым сигналом pSc119.2 на коротком плече и двумя сигналами на длинном плече (см. рисунок, б), на котором также присутствует сайт *Spelt52* (см. рисунок, в). Данная хромосома была определена нами как хромосома 2S *Ae. speltoides* (Badaeva et al., 1996; Ruban, Badaeva, 2018). Таким образом, в случае линии Л664 нами установлено хромосомное замещение 2S(2D). Кроме этого, результаты гибридизации зондов pSc119.2 и pAs1 на хромосомах линии Л657 (см. рисунок, а) указывают на замещение хромосомы 6D предположительно на хромосому 6A *T. dicoccum*, вида, который присутствует в родословной этой линии. У линии Л664 сайты *Spelt1* выявлены на концах длинных плеч пары хромосом генома А, наиболее вероятно, хромосом 2А. У сортов мягкой пшеницы такая локализация этого зонда не

отмечена, но она характерна для тетраплоидных пшениц, в частности для *T. dicoccum*, и может свидетельствовать о хромосомном замещении или транслокации от данного вида (присутствующего в родословной).

У линий Л758, Л960, Л971, Л995/1, Л997 и Л1110 ожидалось наличие интрогрессий от видов *T. timopheevii* или *T. kiharae*. Интересно, что во всех шести линиях слабые сигналы гибридизации с зондом *Spelt52* выявлены на коротких плечах пары хромосом генома А, скорее всего, хромосом 2А (см. рисунок, з). Такая локализация *Spelt52* характерна для *T. timopheevii* или *T. kiharae* и может указывать на транслокации от этих видов. Сигналы гибридизации с зондом *Spelt1* у линии Л758 не выявлены. Линии Л995/1, Л997 и Л1110 несут блоки *Spelt1* на концах коротких плеч хромосом 6В (см. рисунок, ж), что характерно для ряда сортов мягкой пшеницы (Salina et al., 2006). Локализация *Spelt1* на длинных плечах хромосом 2А у линий Л960, Л971, Л997 и Л1110 (см. рисунок, ж) в сочетании с локализацией зонда *Spelt52* на коротких плечах

этих хромосом (см. рисунок, з) может свидетельствовать о замещении хромосомы 2A на 2A¹ (от *T. timopheevii* или *T. kiharae* соответственно) у этих линий. У Л960 еще один сайт Spelt1 расположен на длинном плече хромосомы, которая по локализации зонда рSc119.2 соответствует хромосоме 4G *T. timopheevii*, хромосома 4B при этом отсутствует (см. рисунок, з). Полученные результаты свидетельствуют о том, что линия Л960 имеет хромосомное замещение 4G(4B). Также по локализации зонда рSc119.2 у линии Л960 можно предположить транслокацию Т3BS.3GL. Распределение зонда рAs1 на длинном плече хромосомы 2D у данной линии практически идентично таковому у *T. kiharae*, что говорит о вероятной транслокации Т2D^(T. aestivum)S.2D^(T. kiharae)L (см. рисунок, з). Следует отметить, что у Л960, а также у линий Л758, Л664, Л971, Л997 и Л1110 локализация зонда рAs1 на длинном плече хромосомы 7D не соответствует мягкой пшенице, что указывает на транслокацию (см. рисунок, б, е, и). Наличие у четырех из этих линий гена *Sr25* (Баранова и др., 2023), перенесенного в геном мягкой пшеницы от *Th. ponticum* (Friebe et al., 1996), и картина гибридизации рAs1 на длинном плече хромосомы J^s-7 пырея (Cui et al., 2018) позволяют заключить, что хромосомы 7D этих линий несут транслокации от *Th. ponticum*.

В случае линий Л995/1, Л971 и Л997, Л1110 по результатам гибридизации с зондом рSc119.2 можно говорить о замещении хромосомы 2B на 2G *T. timopheevii*, 2G(2B), или о транслокации Т2BS.2GL (см. рисунок, е–и). Дополнительно у линии Л971 предполагается хромосомное замещение 6G(6B) (см. рисунок, е).

Линии Л935 и Л968 были получены с участием австралийского сорта тритикале Satu. GISH с ДНК ржи и FISH с зондами рSc119.2 + рAs1 показали у этих линий замещение хромосом 3D на пару хромосом 3R (см. рисунок, д).

Идентификация генов устойчивости к стеблевой ржавчине с использованием молекулярных маркеров

Результаты идентификации генов *Sr* у анализируемых линий с помощью молекулярных маркеров, подтвержденные анализом родословных и данными цитогенетического анализа, представлены в табл. 2. В настоящей работе у разных линий были обнаружены фрагменты ПЦР, специфичные для генов *Sr32*, *Sr39*, *Sr47* (*Ae. speltooides*), *Sr36* (*T. timopheevii*) и *Sr38* (*Ae. ventricosa*). Все полученные результаты ПЦР анализа с указанием использованных молекулярных маркеров приведены в Приложении 3. Диагностический фрагмент маркера VENTRIUP-LN2 для гена *Sr38* наблюдали только у линии Л971 (см. Приложение 3). Присутствие гена *Sr36* было установлено у двух линий, Л997 и Л1110, с использованием маркера *Xstm773-2* (см. табл. 2, Приложение 3).

Ген *Sr39* идентифицировали с использованием маркера *Sr39#22*. Диагностический фрагмент (800 п. о.) был обнаружен у пяти линий (Приложение 4, см. Приложение 3). Для выявления гена *Sr32* применяли маркер *csSr32#2*. Диагностический фрагмент наблюдали у трех линий – Л960, Л968 и Л995/1. Ген *Sr47* идентифицировали с использованием трех маркеров – *Xgwm501*, *Xgpw4043* и *Xgwm47* (Приложение 3 и 5). Диагностический фрагмент маркера

Xgwm501 (109 п. о.) был выявлен у четырех линий – Л971, Л995/1, Л997 и Л1110. Из двух диагностических фрагментов маркера *Xgpw4043* только фрагмент длиной 95 п. о. амплифицировался у линий Л657, Л664, Л758 и Л971, фрагмент 115 п. о. отсутствовал (см. Приложение 5). Диагностический фрагмент маркера *Xgwm47* (165 п. о.) был идентифицирован только у линии Л664.

Ранее все анализируемые нами линии были протестированы на присутствие гена *Sr25* (Баранова и др., 2023) с использованием рекомендованного для маркер-ориентированной селекции маркера *Gb* (Prins et al., 2001). Данный ген выявлен у шести линий (см. табл. 2, Приложение 3). По результатам предыдущих исследований (Баранова и др., 2023) и настоящей работы гены *Sr2*, *Sr24*, *Sr28*, *Sr31*, *Sr1A.1R* и *Sr57* не обнаружены ни у одной из линий.

Обсуждение

Эффективность молекулярных маркеров, рекомендованных для маркер-ориентированной селекции для выявления генов устойчивости к стеблевой ржавчине

Молекулярные маркеры широко используются для идентификации генов устойчивости к различным патогенам, в том числе к стеблевой ржавчине. Среди огромного количества молекулярных маркеров выделены наиболее специфичные, рекомендованные для маркер-ориентированной селекции (<https://maswheat.ucdavis.edu/>). Однако работа с разнообразным растительным материалом, особенно с интрогрессивными линиями, исследователь может столкнуться с недостаточной специфичностью даже рекомендованного маркера и, как следствие, с ложноположительной идентификацией гена. В связи с этим желательным является проведение исследований в комплексе и подтверждать наличие искомого гена наряду с данными молекулярно-генетического анализа изучением родословных, цитогенетическими и фитопатологическими результатами.

В ходе нашей работы интрогрессивные линии были проанализированы цитогенетически и с использованием молекулярных маркеров. Также учитывали данные родословных линий.

У шести из десяти исследованных линий (Л664, Л758, Л960, Л971, Л997 и Л1110) ранее был идентифицирован ген *Sr25* (Баранова и др., 2023), что полностью подтвердилось данными цитогенетического анализа в настоящей работе (см. табл. 2). Ген *Sr25* сцеплен с геном устойчивости к листовой ржавчине *Lr19* и локализован в транслокации Т7DS·7DL-7Ae#1L от *Th. ponticum* (Friebe et al., 1994).

Результаты идентификации гена *Sr36* с использованием маркера *Xstm773-2* тоже подтверждаются цитогенетическим анализом. Как известно, ген *Sr36* локализуется в хромосоме 2G (Friebe et al., 1996). Линии Л997 и Л1110, у которых по данным молекулярно-генетического анализа был выявлен этот ген, несут хромосому 2G от *T. timopheevii* (см. рисунок, ж–и, табл. 2).

Неоднозначные результаты получены нами относительно генов устойчивости *Sr32*, *Sr39* и *Sr47*, источником которых является *Ae. speltooides*. Цитогенетический анализ выявил генетический материал от *Ae. speltooides* (замещение хромосомы 2D на хромосому 2S – 2S(2D) только у

линии Л664, в родословной которой присутствует этот вид). Однако диагностический фрагмент маркера Sr39#22 (маркер гена Sr39) был идентифицирован также у линий Л971, Л995/1, Л997 и Л1110 (см. Приложение 3), в родословных которых отсутствует *Ae. speltooides*, но есть генетический материал от *T. timopheevii*, что подтвердилось цитогенетически. Также, исходя из родословных Л997 и Л1110, в скрещиваниях использовали синтетик доктора Савова (GA'D) (*T. timopheevii* × *T. tauschii*). Таким образом, диагностический фрагмент маркера Sr39#22 амплифицировался у линий с материалом *T. timopheevii* и, возможно, *T. tauschii*. Надо отметить, что аналогичные результаты по маркеру Sr39#22 были получены Е.И. Гуляевой с коллегами (Гуляева и др., 2014). В их исследовании отмечено, что, несмотря на то, что данный маркер широко используется для идентификации гена *Sr39/Lr35*, его диагностический фрагмент амплифицировался в образцах пшеницы с материалом *T. timopheevii* и *T. tauschii* – например, в сорте Памяти Майстренко, который применялся для получения линий Л995/1 и Л997 (см. табл. 1).

Диагностический фрагмент маркера csSr32#2 (152 п. о.) гена *Sr32* был идентифицирован у линий Л960, Л968 и Л995/1 с генетическим материалом *T. kiharae* и *Th. ponticum* (линия Л960), *S. cereale* L. (линия Л968) и *T. timopheevii* (линия Л995/1) (см. Приложение 3). Исходя из вышеотмеченного, мы не стали учитывать полученные результаты по данному маркеру гена *Sr32*, считая их ярким примером ложноположительной идентификации гена.

Еще один ген от *Ae. speltooides* – *Sr47* – мы идентифицировали с использованием трех маркеров, *Xgwm501*, *Xgwm47* и *Xgpm4043*, результаты по которым тоже неоднозначны. Диагностический фрагмент (109 п. о.) маркера *Xgwm501* четко выявлялся у линий Л971, Л995/1, Л997 и Л1110 (см. Приложение 3), которые описывались выше и в родословных которых присутствуют сорт Памяти Майстренко и синтетик доктора Савова (GA'D) – *T. timopheevii* × *T. tauschii*. Генетического материала от *Ae. speltooides* в них нет, что видно и из цитогенетического анализа (см. табл. 2). Что касается маркера *Xgpm4043*, то диагностический фрагмент 95 п. о. наблюдался у линий Л657, Л664, Л758 и Л971, второй диагностический фрагмент 115 п. о. отсутствовал. Такая ситуация описана в работе (Klindworth et al., 2012), когда у части линий пшеницы с геном *Sr47* фрагмент 115 п. о. не амплифицировался или отличался по интенсивности окрашивания, а амплифицировался только фрагмент 95 п. о., и авторы настоятельно рекомендовали для идентификации *Sr47* подбирать несколько маркеров. Только у линии Л664, в родословной которой есть *Ae. speltooides* и цитогенетическим анализом установлено хромосомное замещение 2S(2D), был идентифицирован диагностический фрагмент маркера *Xgwm47*. Также в этой линии был идентифицирован диагностический фрагмент маркера Sr39#22 (ген *Sr39/Lr35*). Следует отметить, что оба гена, *Sr47* и *Sr39*, локализованы в хромосоме 2S *Ae. speltooides*, причем *Sr39* – на коротком плече, а *Sr47* – на длинном (Klindworth et al., 2012). Поскольку у линии Л664 постулировано замещение 2S(2D), то вполне возможно присутствие у нее как гена *Sr39*, так и гена *Sr47*.

Ген *Sr38*, сцепленный с генами устойчивости к бурой (*Lr37*) и желтой (*Yr17*) ржавчинам, происходит от вида *Ae. ventricosa* Tausch. (Bariana, McIntosh, 1993). Несмотря на отсутствие данного вида в родословных интрогрессивных линий (см. табл. 1), диагностический фрагмент маркера VENTRIUP-LN2 к гену *Sr38* был найден у линии Л971. Цитогенетический анализ не выявил у нее генетического материала *Ae. ventricosa*, поэтому можно заключить, что в данном случае наблюдается ложноположительная идентификация гена *Sr38*.

Таким образом, надо обратить внимание на показанную в нашем исследовании недостаточную специфичность маркеров генов *Sr32* – csSr32#2, *Sr38* – VENTRIUP-LN2, *Sr39* – Sr39#22, *Sr47* – *Xgwm501* и *Xgpm4043*. Этот момент необходимо учитывать при идентификации генов устойчивости с использованием молекулярных маркеров у образцов пшеницы с чужеродным генетическим материалом. Также еще раз хочется отметить важность сочетания разных подходов при анализе интрогрессивных форм для повышения его эффективности.

Характеристика новых интрогрессивных линий яровой мягкой пшеницы, устойчивых к стеблевой ржавчине

Результаты оценки устойчивости анализируемых линий к поволжским популяциям возбудителя стеблевой ржавчины на стадии проростков, полученные нами ранее (Баранова и др., 2023), представлены в Приложении 3. Показано, что к татарстанской популяции гриба, собранной с сорта Надира, были восприимчивы две линии – Л657 и Л971, причем Л971 была гетерогенна по устойчивости. К саратовской популяции, собранной с сорта Воевода, были восприимчивы линии Л758 и Л960. Шесть линий проявили устойчивость к обеим популяциям патогена (Л664, Л935, Л968, Л995/1, Л997, Л1110). Таким образом, характеристика интрогрессивных линий будет основываться на данных предыдущих работ (Баранова и др., 2023; Baranova et al., 2023) и результатов, полученных в настоящем исследовании.

По оценке KALRO (Кения), все линии, за исключением Л995/1, были высокоустойчивы к расе Ug99 (TTKSK) (см. табл. 2). Согласно данным FAO, к настоящему времени эффективность к расе Ug99 сохраняют гены *Sr28*, *Sr29*, *SrTmp* (*T. aestivum* L.), *Sr2*, *Sr13*, *Sr14* (*T. turgidum* L.), *Sr22*, *Sr35* (*T. monococcum* L.), *Sr37* (*T. timopheevii* Zhuk.), *Sr32*, *Sr39*, *Sr47* (*Ae. speltooides* Tausch.), *Sr33*, *Sr45* (*Ae. tauschii* Coss.), *Sr40* (*T. araraticum* Jakubz.), *Sr25*, *Sr26*, *Sr43* (*Ag. elongatum* Host.), *Sr44* (*Ag. intermedium* Host.), *Sr27* и *Sr1A.1R* (*S. cereale* L.) (<http://www.fao.org/agriculture/crops/rust/stem/stem-pathotypetracker/stem-effectivesgenes/en>). Ген *SrSatu* тоже эффективен против расы Ug99 (Olivera et al., 2013).

На основании проведенного ранее анализа вирулентности популяций патогена с сортов Надира и Воевода (Baranova et al., 2023) среди генов, наличие которых можно было предполагать у исследованных линий, только ген *Sr32* эффективен против обеих популяций гриба. Однако этот ген не выявлен ни у одной из линий. Помимо него, против татарстанской популяции возбудителя эффективен

ген *Sr39*, идентифицированный только у линии Л664. Следовательно, устойчивость линий к патогену определяется иными, не изученными генами или сочетаниями генов.

В трех линиях, устойчивых к поволжским популяциям гриба (Л935, Л968 и Л995/1), с помощью молекулярно-генетического анализа не удалось идентифицировать известные гены устойчивости. Две из них несут генетический материал *S. cereale*. Это линии Л935 и Л968 (см. табл. 1), в родословных которых был сорт тритикале Satu и которые, согласно цитогенетическому анализу, имеют хромосомное замещение 3R(3D) (см. табл. 2, рисунок, д). Они тоже оказались иммунными к расе Ug99. Линия Л968 иммунна также к желтой ржавчине (по результатам оценки KALRO), т. е. обладает групповой устойчивостью к возбудителям желтой и стеблевой ржавчин. Ген *SrSatu* локализован в хромосоме 3R ржи и тесно сцеплен с геном *LrSatu*. Кроме того, в хромосоме 3R локализован ген *Sr27* (Singh, McIntosh, 1988). Гены *Sr27* и *SrSatu*, согласно данным R.A. McIntosh (McIntosh et al., 1995), аллельны между собой и высокоэффективны по отношению к популяциям возбудителя стеблевой ржавчины. В более ранней работе S.J. Singh и R.A. McIntosh в результате генетического анализа F₂ и F₃ гибридов устойчивых к стеблевой ржавчине сортов Satu (*SrSatu*) и Coorong (*Sr27*) с восприимчивыми сортами тритикале показали, что устойчивость каждого из сортов детерминируется одним доминантным геном и гены *SrSatu* и *Sr27* аллельны или тесно сцеплены (Singh, McIntosh, 1988). В этой статье показано, что использованный в скрещиваниях сорт Satu не нес гена *Sr27*. В наших исследованиях для гена *Sr27* получен тип реакции «1» на популяцию *P. graminis* f. sp. *tritici*, собранную с сорта яровой мягкой пшеницы Воевода, и «2+» – с сорта Надира (Baranova et al., 2023), тогда как линии Л935 и Л968 показали тип реакции или «0;», или «1» (см. Приложение 3). С другой стороны, ген *Sr27* эффективен против Ug99, но линии с ним устойчивы или среднеустойчивы (R, MR) (Jin et al., 2007), а в проведенном нами исследовании линии были иммунными, тип реакции «0» (см. табл. 2). Таким образом, с учетом родословной, а также данных цитогенетического и фитопатологического анализов есть основания считать, что Л935 и Л968 несут ген *SrSatu*.

Устойчивость к поволжским популяциям гриба у линии Л995/1 (см. Приложение 3), вероятнее всего, определяется неидентифицированными генами на хромосоме 2G *T. timopheevii* (хромосомное замещение 2G(2B), или транслокация T2BS.2GL) (см. табл. 2). У Л995/1 донором чужеродных интрогрессий и устойчивости к возбудителю стеблевой ржавчины является сорт Памяти Майстренко. Как известно, этот сорт унаследовал хромосомное замещение 2B(2G) от линии яровой мягкой пшеницы «Саратовская 29 иммунная Л110», которая имеет возрастную устойчивость к возбудителю стеблевой ржавчины (Лайкова и др., 2013). Линия Л995/1 показала промежуточный тип устойчивости к расе Ug99 (5M).

В линиях Л664, Л997 и Л1110 идентифицированы гены устойчивости, присутствие которых подтверждается данными цитогенетического анализа (см. табл. 2) и анализа родословных (см. табл. 1). Л664 была устойчива к обеим популяциям гриба, собранным с сортов яровой мягкой пшеницы Воевода и Надира, и высокоустойчива (5RMR)

к расе Ug99. У этой линии идентифицированы гены: *Sr25* (подтверждается наличием транслокации на 7DL от *Th. ponticum*, T7DS-7DL-7Ae#1L); *Sr39* и *Sr47*, которые локализованы на хромосоме 2S *Ae. speltooides* (McIntosh et al., 2013). Популяция *P. graminis* f. sp. *tritici* с сорта Воевода вирулентна к генам *Sr39* и *Sr25*, однако линия Л664 высокоустойчива, что может определяться дополнительным геном устойчивости от *Ae. speltooides* – *Sr47*. Тип реакции для линий с геном *Sr47* при заражении их расой Ug99 – «2-» (Klindworth et al., 2012), что соотносится с результатами оценки линии Л664 на устойчивость к Ug99 – 5RMR (см. табл. 2). Таким образом, есть основания заключить, что Л664 несет эффективную комбинацию генов *Sr25* + *Sr39* + *Sr47*.

Надо сказать, что использование источников гена *Sr25* в селекции на устойчивость к стеблевой ржавчине традиционно для селекционных центров Поволжья. В 2009 г. появилось сообщение, что в Индии выявлен изолят гриба, вирулентный к этому гену (Jain et al., 2009). К сожалению, этот прежде высокоэффективный ген в последние годы теряет эффективность и на территории Поволжья (Баранова и др., 2021; Baranova et al., 2023). Однако *Sr25* все еще эффективен против расы Ug99 и может быть ценным для селекции в сочетании с другими генами, такими как *Sr31*, *Sr35* и *Sr36*, а в данном случае с генами *Sr39* и *Sr47*. Линии с материалом от *Ae. speltooides* с генами *Sr39* + *Sr47* весьма перспективны для селекции благодаря их эффективности против Ug99 (Klindworth et al., 2012). Среди отечественных сортов выделяется сорт Челябин 75 селекции Челябинского НИИСХ с генетическим материалом от *Ae. speltooides* (ген *Sr39*), который обладает не только групповой устойчивостью к бурой и стеблевой ржавчинам и твердой головне (по данным оригинатора), но и устойчивостью к расе Ug99 (Шаманин и др., 2011).

Линии Л997 и Л1110 устойчивы к обеим поволжским популяциям *P. graminis* f. sp. *tritici*. У них идентифицированы гены *Sr25* (T7DS-7DL-7Ae#1L от *Th. ponticum*) и *Sr36* (2G(2B), или транслокация T2BS.2GL) (см. табл. 2, рисунок, ж-и). Устойчивость к возбудителю стеблевой ржавчины у этих линий определяется комбинацией *Sr25* + *Sr36* и, вероятно, неидентифицированным(-и) геном(-ами) от *T. timopheevii* в хромосоме 2A¹. Это подтверждается иммунитетом данных линий к Ug99, а также иммунитетом линии Л997 к возбудителю желтой ржавчины.

Устойчивость линии Л960 к популяции стеблевой ржавчины с сорта Надира и ее средняя устойчивость к расе Ug99 (5MR), вероятнее всего, связана с неидентифицированными генами от *T. kiharae* (см. табл. 2).

Линия Л971 среднеустойчива к Ug99 (см. табл. 2). Она оказалась гетерогенной по устойчивости к популяции *P. graminis* f. sp. *tritici*, собранной с сорта яровой мягкой пшеницы Надира, и устойчива к популяции гриба с сорта Воевода (см. Приложение 3). Поскольку известно, что обе популяции вирулентны к ранее идентифицированному у данной линии гену *Sr25*, можно предположить наличие у нее других генов устойчивости, скорее всего, локализованных на хромосоме 2A¹ *T. timopheevii* или/и на хромосоме 2G (см. табл. 2). Причем ген (гены) устойчивости отличаются от генов, перенесенных ранее от *T. timopheevii* – *Sr36* (T2B/2G#1) и *Sr40* (T2BL/2G#2S),

большей эффективностью, так как популяции *P. graminis* f. sp. *tritici*, собранные с сортов Надира и Воевода, вирулентны к ним (Baranova et al., 2023).

Устойчивость линии Л758 к расе Ug99 (5R) определяется геном *Sr25* – T7DS-7DL-7Ae#1L от *Th. ponticum* (см. табл. 2).

Линия Л657 устойчива к популяции стеблевой ржавчины, собранной с сорта пшеницы Воевода, и к расе Ug99 (5RMR), но не несет ни одного из протестированных *Sr* генов. Возможно, что не идентифицированные или неизвестные гены *Sr*, детерминирующие устойчивость этой линии, локализируются на хромосоме 6A *T. dicoccum*, заместившей у нее хромосому 6D (см. табл. 2, рисунок, а).

Таким образом, в результате фитопатологического, молекулярно-генетического и цитогенетического анализа выделены иммунные и устойчивые к поволжским популяциям гриба, а также к расе Ug99 (см. табл. 2) линии с эффективными сочетаниями генов устойчивости – *Sr25* + *Sr39* + *Sr47* (Л664), *Sr25* + *Sr36* (Л997 и Л1110), и с геном, предварительно определенным как *SrSatu* (Л935 и Л968). Линии Л657, Л960 и Л971 могут являться источниками новых генов устойчивости к стеблевой ржавчине.

Заключение

Проведенный цитогенетический анализ совместно с идентификацией с помощью ДНК-маркеров *Sr* генов и фитопатологической оценкой устойчивости к расе Ug99 *P. graminis* f. sp. *tritici* у интрогрессивных линий яровой мягкой пшеницы позволил: определить характер чужеродных интрогрессий; установить степень устойчивости к патогену; выявить эффективные *Sr* гены. В результате получена комплексная характеристика десяти интрогрессивных линий яровой мягкой пшеницы, устойчивых к Ug99, что разрешает целенаправленно использовать их в селекции яровой мягкой пшеницы на устойчивость к возбудителю стеблевой ржавчины.

Список литературы / References

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. *Вестн. защиты растений*. 2021;104(2):105-112. DOI 10.31993/2308-6459-2021-104-2-14994
[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. *Vestnik Zashchity Rasteniy = Plant Protection News*. 2021;104(2):105-112. DOI 10.31993/2308-6459-2021-104-2-14994 (in Russian)]
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 прикл. ботанике, генетике и селекции*. 2023;184(1):177-186. DOI 10.30901/2227-8834-2023-1-177-186
[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. *Trudy po Prikladnoy Botanike, Genetike i Seleksii = Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2023;184(1):177-186. DOI 10.30901/2227-8834-2023-1-177-186 (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

[Vasilova N.Z., Askhadullin Dam.F., Askhadullin Dan.F. Stem rust epiphytotic on soft spring wheat in Tatarstan. *Zashchita i Karantin Rasteniy = Plant Protection and Quarantine*. 2017;2:27-28 (in Russian)]
Гультяева Е.И., Орина А.С., Ганнибал Ф.Б., Митрофанова О.П., Одинова И.Г., Лайкова Л.И. Эффективность молекулярных маркеров для выявления генов *Lr28*, *Lr35* и *Lr47* у мягкой пшеницы. *Генетика*. 2014;50(2):147-156. DOI 10.7868/S0016675814020064
[Gulyaeva E.I., Orina A.S., Gannibal Ph.B., Mitrofanova O.P., Odintsova I.G., Laikova L.I. The effectiveness of molecular markers for the identification of *Lr28*, *Lr35*, and *Lr47* genes in common wheat. *Russ. J. Genet.* 2014;50(2):131-139. DOI 10.1134/S1022795414020069]
Гультяева Е.И., Сибикеев С.Н., Дружин А.Е., Шайдаюк Е.Л. Расширение генетического разнообразия сортов яровой мягкой пшеницы по устойчивости к бурой ржавчине (*Puccinia triticina* Eriks.) в Нижнем Поволжье. *С.-х. биология*. 2020;55(1):27-44. DOI 10.15389/agrobiology.2020.1.27rus
[Gulyaeva E.I., Sibikeev S.N., Druzhin A.E., Shaydayuk E.L. Enlargement of genetic diversity of spring bread wheat resistance to leaf rust (*Puccinia triticina* Eriks.) in Lower Volga region. *Selskhozaystvennaya Biologiya = Agricultural Biology*. 2020;55(1):27-44. DOI 10.15389/agrobiology.2020.1.27eng]
Кельбин В.Н., Сколотнева Е.С., Салина Е.А. Возможности и перспективы формирования генетической защиты мягкой пшеницы от стеблевой ржавчины в Западной Сибири. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2020;24(8):821-828. DOI 10.18699/VJ20.679
[Kelbin V.N., Skolotneva E.S., Salina E.A. Challenges and prospects for developing genetic resistance in common wheat against stem rust in Western Siberia. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2020;24(8):821-828. DOI 10.18699/VJ20.679 (in Russian)]
Лайкова Л.И., Белан И.А., Бадаева Е.Д., Росеева Л.П., Шепелев С.С., Шумный В.К., Першина Л.А. Создание и изучение сорта яровой мягкой пшеницы «Памяти Майстренко» с интрогрессией генетического материала от синтетического гексаплоида *Triticum timopheevii* Zhuk. × *Aegilops tauschii* Coss. *Генетика*. 2013;49(1):103-112. DOI 10.7868/S0016675813010062
[Laikova L.I., Belan I.A., Badaeva E.D., Rosseeva L.P., Shepelev S.S., Shumny V.K., Pershina L.A. Development and study of spring bread wheat variety Pamyati Maystrenko with introgression of genetic material from synthetic hexaploid *Triticum timopheevii* Zhuk. × *Aegilops tauschii* Coss. *Russ. J. Genet.* 2013;49(1):89-97. DOI 10.1134/S1022795413010067]
Салина Е.А., Песцова Е.Г., Вершинин А.В. «Spelt1» – новое семейство tandemных повторов злаков. *Генетика*. 1997;33(4):437-442
[Salina E.A., Pestsova E.G., Vershinin A.V. “Spelt1” a novel family of tandemly repeated DNA in cereals. *Russ. J. Genet.* 1997;33(4):352-357]
Сколотнева Е.С., Кельбин В.Н., Шаманин В.П., Бойко Н.И., Апарина В.А., Салина Е.А. Ген *Sr38*: значение для селекции мягкой пшеницы в условиях Западной Сибири. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2021;25(7):740-745. DOI 10.18699/VJ21.084
[Skolotneva E.S., Kelbin V.N., Shamanin V.P., Boyko N.I., Aparina V.A., Salina E.A. The gene *Sr38* for bread wheat breeding in Western Siberia. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2021;25(7):740-745. DOI 10.18699/VJ21.084]
Шаманин В.П., Моргунов А.И., Чурсин А.С., Меркешина Н.Н., Штубей Т.Ю., Левшунов М.А., Каракоз И.И. Представляет ли стеблевая ржавчина угрозу урожаю пшеницы в условиях Западной Сибири. *Ученых о врем. естествознания*. 2011;2:56-60
[Shamanin V.P., Morgunov A.I., Chursin A.S., Merkeshina N.N., Shtubey T.Yu., Levshunov M.A., Karakoz I.I. Does stem rust pose a threat to the wheat harvest in Western Siberia. *Uspekhi Sovremennogo Estestvoznaniya = Advances in Current Natural Sciences*. 2011;2:56-60 (in Russian)]

- Badaeva E.D., Friebe B., Gill B.S. Genome differentiation in *Aegilops*. 1. Distribution of highly repetitive DNA sequences on chromosome of diploid species. *Genome*. 1996;39(2):293-306. DOI 10.1139/g96-040
- Badaeva E.D., Ruban A.S., Aliyeva-Schnorr L., Municio C., Hesse S., Houben A. In situ hybridization to plant chromosomes. In: Liehr T. (Ed.) Fluorescence In Situ Hybridization (FISH): Application Guide. Springer protocols handbooks. Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag, 2017;477-494. DOI 10.1007/978-3-662-52959-1_49
- Baranova O., Solyanikova V., Kyrova E., Kon'kova E., Gaponov S., Sergeev V., Shevchenko S., Mal'chikov P., Dolzhenko D., Bespalova L., Ablova I., Tarhov A., Vasilova N., Askhadullin Dm., Askhadullin Dn., Sibikeev S. Evaluation of resistance to stem rust and identification of *Sr* genes in Russian spring and winter wheat cultivars in the Volga region. *Agriculture*. 2023;13(3):635. DOI 10.3390/agriculture13030635
- Bariana H.S., McIntosh R.A. Cytogenetic studies in wheat. XV. Location of rust resistance genes in VPM1 and their genetic linkage with other disease resistance genes in chromosome 2A. *Genome*. 1993;36(3):476-482. DOI 10.1139/g93-065
- Bedbrook R.J., Jones J., O'Dell M., Thompson R.J., Flavell R.B. A molecular description of telomeric heterochromatin in *Secale* species. *Cell*. 1980;19(2):545-560. DOI 10.1016/0092-8674(80)90529-2
- Cui Y., Zhang Y., Qi J., Wang H., Wang R.R.C., Bao Y., Li X. Identification of chromosomes in *Thinopyrum intermedium* and wheat *Th. intermedium* amphiploids based on multiplex oligonucleotide probes. *Genome*. 2018;61(7):515-521. DOI 10.1139/gen-2018-0019
- Friebe B., Jiang J., Knott D.R., Gill B.S. Compensation indexes of radiation-induced wheat *Agropyron elongatum* translocations conferring resistance to leaf rust and stem rust. *Crop Sci*. 1994;34(2):400-404. DOI 10.2135/cropsci1994.0011183X003400020018x
- Friebe B., Jiang J., Raupp W.J., McIntosh R.A., Gill B.S. Characterization of wheat-alien translocations conferring resistance to diseases and pests current status. *Euphytica*. 1996;91:59-87. DOI 10.1007/BF00035277
- Gulyaeva E.I., Shaydayuk E.L., Gannibal P.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., Shaydayuk E., Kosman E. Virulence diversity of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in common wheat in Russian regions in 2019–2021. *Agriculture*. 2022;12(11):1957. DOI 10.3390/agriculture12111957
- Jain S.K., Prashar M., Bhardwaj S.C., Singh S.B., Sharma Y.P. Emergence of virulence to *Sr25* of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* on wheat in India. *Plant Dis*. 2009;93(8):840. DOI 10.1094/PDIS-93-8-0840B
- Jiang J., Gill B.S. Different species-specific chromosome translocation in *Triticum timopheevii* and *T. turgidum* support diphyletic origin of polyploid wheats. *Chromosome Res*. 1994;2(1):59-64. DOI 10.1007/BF01539455
- Jin Y., Singh R.P., Ward R.W., Wanyera R., Kinyua M., Njau P., Fetch T., Pretorius Z.A., Yahyaoui A. 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*. 2007;91(9):1096-1099. DOI 10.1094/PDIS-91-9-1096
- Klindworth D.L., Niu Z., Chao S., Friessen T.L., Faris J.D., Cai X., Xu S.S. Introgression and characterization of a goatgrass gene for a high level of resistance to Ug99 stem rust in tetraploid wheat. *G3 (Bethesda)*. 2012;2(6):665-673. DOI 10.1534/g3.112.002386
- Knott D.R. The Wheat Rust – Breeding for Resistance. (Ser. Monographs on Theoretical and Applied Genetics). Berlin: Springer-Verlag, 1989. DOI 10.1007/978-3-642-83641-1
- Lewis C.M., Persoons A., Bebbler D.P., Kigathi R.N., Maintz J., Findlay K., Bueno-Sancho V., Corredor-Moreno P., Harrington S.A., Kangara N., Berlin A., García R., German S.E., Hanzalová A., Hodson D.P., Hovmöller M.S., Huerta-Espino J., Imtiaz M., Mirza J.I., Justesen A.F., Niks R.E., Omarani A., Patpour M., Pretorius Z.A., Roohparvar R., Sela H., Singh R.P., Steffenson B., Visser B., Fenwick P.M., Thomas J., Wulff B.B.H., Saunders D.G.O. Potential for re-emergence of wheat stem rust in the United Kingdom. *Commun. Biol*. 2018;1:13. DOI 10.1038/s42003-018-0013-y
- McIntosh R.A., Wellings C.R., Park R.F. Wheat Rusts: An atlas of resistant genes. CSIRO Publication, Collingwood, 1995. DOI 10.1007/978-94-011-0083-0
- McIntosh R.A., Yamazaki Y., Dubcovsky J., Rogers W.J., Morris C., Appels R., Xia X.C. Catalogue of Gene Symbols for Wheat. 12th International Wheat Genetics Symposium. 8–13 September 2013. Yokohama, Japan, 2013. <https://shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/macgene/2013/GeneCatalogueIntroduction.pdf>
- McIntosh R.A., Dubcovsky J., Rogers W.J., Xia X.C., Raupp W.J. Catalogue of Gene Symbols for Wheat: 2022 Supplement. *Annu. Wheat Newsl*. 2022;68:68-81
- Murray M.G., Thompson W.F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Res*. 1980;8(19):4321-4325. DOI 10.1093/nar/8.19.4321
- Olivera P.D., Pretorius Z.A., Badebo A., Jin Y. Identification of resistance to races of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* with broad virulence in triticale (\times *Triticosecale*). *Plant Dis*. 2013;97:479-484. DOI 10.1094/PDIS-05-12-0459-RE
- Patpour M., Hovmöller M.S., Rodríguez-Algaba J., Randazzo B., Villegas D., Shamanin V.P., Berlin A., Flath K., Czembor P., Hanzalová A., Sliková S., Skolotneva E.S., Jin Y., Szabo L., Meyer K.J.G., Valade R., Thach T., Hansen J.G., Justesen A.F. Wheat stem rust back in Europe: diversity, prevalence and impact on host resistance. *Front. Plant Sci*. 2022;13:882440. DOI 10.3389/fpls.2022.882440
- Peterson R.F., Campbell A.B., Hannah A.E. A diagrammatic scale for estimating rust intensity on leaves and stems of cereals. *Can. J. Res*. 1948;26(5):496-500. DOI 10.1139/cjr48c-033
- Prins R., Groenewald J.Z., Marais G.F., Snape J.W., Koebner R.M.D. AFLP and STS tagging of *Lr19*, a gene conferring resistance to leaf rust in wheat. *Theor. Appl. Genet*. 2001;103(4):618-624. DOI 10.1007/PL00002918
- Rayburn A.L., Gill B.S. Isolation of a D-genome specific repeated DNA sequence from *Aegilops squarrosa*. *Plant Mol. Biol. Rep*. 1986;4(2):104-109. DOI 10.1007/BF02732107
- Ruban A.S., Badaeva E.D. Evolution of the S-genomes in *Triticum-Aegilops* alliance: evidences from chromosome analysis. *Front. Plant Sci*. 2018;9:1756. DOI 10.3389/fpls.2018.01756
- Salina E.A., Adonina I.G., Vatolina T.Y., Kurata N. Comparative analysis of the composition and organization of two subtelomeric repeat families in *Aegilops speltoides* Tausch and related species. *Genetica*. 2004;122(3):227-237. DOI 10.1007/s10709-004-5602-7
- Salina E.A., Lim Y.K., Badaeva E.D., Scherban A.B., Adonina I.G., Amosova A.V., Samatadze T.E., Vatolina T.Y., Zoshchuk S.A., Leitch A. Phylogenetic reconstruction of *Aegilops* section *Sitopsis* and the evolution of tandem repeats in the diploids and derived wheat polyploids. *Genome*. 2006;49(8):1023-1035. DOI 10.1139/g06-050
- Schneider A., Linc G., Molnar-Lang M. Fluorescence *in situ* hybridization polymorphism using two repetitive DNA clones in different cultivars of wheat. *Plant Breed*. 2003;122(5):396-400. DOI 10.1046/j.1439-0523.2003.00891.x
- Schubert I., Shi F., Fuchs J., Endo T.R. An efficient screening for terminal deletions and translocations of barley chromosomes added to common wheat. *Plant J*. 1998;14(4):489-495. DOI 10.1046/j.1365-313X.1998.00125.x
- Singh S.J., McIntosh R.A. Allelism of two genes for stem rust resistance in triticale. *Euphytica*. 1988;38:185-189. DOI 10.1007/BF00040190

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 07.11.2023. После доработки 05.03.2024. Принята к публикации 05.03.2024.