DOI 10.28983/asj.y2021i8pp23-27 УДК 633.11:632.485.2(470.44)

ХАРАКТЕРИСТИКА ВИРУЛЕНТНОСТИ ВОЗБУДИТЕЛЯ СТЕБЛЕВОЙ РЖАВЧИНЫ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

КОНЬКОВА Эльмира Александровна, *ФГБНУ «ФАНЦ Юго-Востока»*

Представлены результаты анализа структуры образцов саратовских популяций возбудителя стеблевой ржавчины пшеницы по признакам вирулентности, проведенного в 2016–2020 гг. Всего по признаку вирулентности охарактеризовано 60 изолятов патогена. Популяции P. graminis за изучаемый период характеризовались как высоковирулентные. Существенное варьирование частот вирулентности P. graminis отмечено на линиях с генами Sr9b, Sr9g, Sr12, Sr21, Sr25, Sr27, Sr30, Sr32, Sr33, Sr7a+12, Sr17+13. К другим используемым в анализе Sr-линиям частоты вирулентности оставались стабильно высокими во все годы исследований. Эффективность в популяциях P. graminis показали гены и комбинации генов: Sr Satu, Sr24, Sr25+9g, Sr25+31, Sr25+38.

Введение. Стеблевая ржавчина (возбудитель – биотрофный гриб *Puccinia graminis f. sp. tritici* Erikss. & Henning) – особо вредоносное заболевание пшеницы. Эпифитотии стеблевой ржавчины были зафиксированы почти на всех континентах, где выращивают пшеницу [18]. Болезнь поражает в основном стебли и листовые влагалища, листья, ости злаков и колосковые чешуи, вызывая разрыв эпидермиса. При эпифитотийном развитии болезни на восприимчивых сортах потери урожая могут достигать от 50 до 100 % [16].

Наблюдается усиление вредоносности стеблевой ржавчины и на территории России. Ежегодно заболевание фиксируется в различных агроклиматических зонах Северо-Кавказского региона [4, 5, 10]. В 2015–2018 гг. эпифитотийное развитие болезни отмечалось в Западной Сибири и Нижнем Поволжье [1, 8, 9, 20]. В 2016 г. распространение стеблевой ржавчины наблюдалось на посевах яровой мягкой пшеницы в Республике Татарстан [3]. В 2015–2017 гг. были отмечены вспышки стеблевой ржавчины в северных регионах Казахстана [7, 17]. В Центральном регионе России вспышки заболевания в посевах яровой и озимой пшеницы были зафиксированы в 2010, 2013 и в 2016 гг. [11].

За последнее десятилетие в Саратовской области также отмечались эпифитотии стеблевой ржавчины пшеницы. В 2016 г. – сильная эпифитотия, поражение достигало 80 %. В 2020 г. наблюдалась сильная, но локальная эпифитотия в пределах опытных полей ФАНЦ Юго-Востока (г. Саратов). В 2017, 2018 и 2019 гг. отмечались слабые эпифитотии патогена (поражение от 5 до 20 %).

С возникновением в 1999 г. в Уганде расы *Ug99* пандемия стеблевой ржавчины охватила множество стран, как Африки, так и Ближнего Востока [15]. Основным признаком этой расы, которая в настоящий момент содержит 13 линий (патотипов) (http;/globalrust.org/pathogens/pathogen-home-page), является вирулентность к гену *Sr31*. Появление расы *Ug99 Puccinia graminis f. sp. tritici* вполне возможно и на территории Российской Федерации. Причем занос вероятен как с территории Ирана, так и с территории Пакистана.

Обстановка в России ухудшается в связи с тем, что ген *Sr31* в настоящий момент – единственный эффективный ген против всех российских популяций возбудителя стеблевой ржавчины [2, 13].

Изучение частот вирулентности к известным *Sr*-генам позволяет оценить динамику вирулентности *P. graminis*, определить наличие наиболее вредоносных патотипов и выявить эффективные гены устойчивости к данному патогену.

Цель данной работы – охарактеризовать генетическую структуру популяции возбудителя стеблевой ржавчины пшеницы по признаку вирулентности в условиях Саратовской области.

Методика исследований. Анализ вирулентности *P. graminis f. sp. tritici* был выполнен на наборе из 44 почти изогенных линий и других линиях с *Sr*-генами: *Sr2compl, Sr5, Sr6, Sr7b, Sr8a, Sr8b, Sr9a, Sr9b, Sr9g, Sr9d, Sr9e, Sr10, Sr11, Sr12, Sr13, Sr15, Sr17, Sr20MQ, Sr21, Sr22, Sr24, Sr25, Sr26, Sr27, Sr28, Sr29, Sr30, Sr31, Sr32, Sr33, Sr35, Sr36, Sr37, Sr38, Sr39, Sr40, Sr44, Sr7a+12, Sr7b+18, Sr17+13,*

Sr25+31, Sr 25+38, Sr 25+9g, Sr Satu. Кроме того, были дополнительно включены сорта: Тулайковская 10 (*Sr6Agi2*) [12], Юго-Восточная 2 (*Sr31*), Фаворит (*Sr6Agi*), Белянка (*Sr6Agi*), Прохоровка (*Sr31*) [13], Мироновская 808 (*SrTmp*) [14].

Инокулюм *Puccinia graminis*, собранный с районированных и перспективных сортов яровой мягкой пшеницы в конце их вегетации при максимальном развитии уровня заболевания в полевом питомнике, изучали в апреле – мае 2016, 2017, 2019, 2020 гг. в условиях теплицы в оптимальных для патогена условиях. Каждый год изучали по 10 монопустульных изолятов каждой популяции *P. graminis*. Каждым монопустульным изолятом заражали весь вышеуказанный набор сортов и линий яровой мягкой пшеницы с различными *Sr*-генами и их комбинациями. Для заражения каждым монопустульным изолятом высевался отдельный набор сортов и линий яровой мягкой пшеницы, носителей *Sr*-генов и их комбинаций. Десятидневные проростки с полностью развернутым первым листом инокулировали суспензией спор *P. graminis*. Инокулированные растения помещали во влажную камеру в темноту на 16 ч при 24°С и относительной влажности 100 %, а затем возвращали на светоустановку при 26°С. Реакцию проростков образцов пшеницы на инокуляцию суспензией спор возбудителя стеблевой ржавчины учитывали на 10–12-е сутки после заражения по 4-балльной шкале E.C. Stakman и M.N. Levine [19]: «0» – отсутствие видимых симптомов (иммунная реакция); «0;» – мелкие некротические пятна, урединиопустулы отсутствуют; «1» – мельчайшие урединиопустулы, окруженные некротическими областями; «2» – небольшие урединиопустулы, окруженные некрозом или хлорозом; «3» – средние урединиопустулы, некроз отсутствует, могут быть окружены хлорозом; «4» – большие часто сливающиеся урединиопустулы, как правило, без хлороза. Знаки «+» или «–», связанные с типом реакции, обозначают урединиопустулы, которые соответственно больше или меньше, чем классически описанные размеры. Типы реакции от «0» до «2» соответствуют устойчивости, «3» и «4» – восприимчивости образца.

Результаты исследований. Изучение популяций возбудителя стеблевой ржавчины, выделенной на посевах пшеницы в Саратовской области, позволило выявить изменения в составе генов вирулентности за 2016–2020 гг. Всего по признаку вирулентности охарактеризовано 60 изолятов патогена. В целом, популяции *P. graminis* за изучаемый период характеризовались как высоковирулентные.

В 2016–2020 гг. стеблевая ржавчина регулярно встречалась в фитопитомнике на юго-западе Саратовской области (Лысогорский район) с разной степенью развития (от 5 до 80 %). Благоприятные условия вегетационного периода 2017 и 2020 гг. способствовали развитию стеблевой ржавчины и в окрестностях г. Саратова, на опытных полях ФАНЦ Юго-Востока. Это свидетельствует о расширении ареала данного возбудителя на территории области. В 2017 г. в окрестностях г. Саратова эпифитотия оценивалась как слабая, степень развития заболевания не превышала 20 % на яровой мягкой пшенице. В 2020 г. здесь наблюдалась сильная эпифитотия *P. graminis*. Удивительным был тот факт, что поражение стеблевой ржавчиной озимой мягкой пшеницы достигало 80 %, тогда как на яровой мягкой пшенице не превышало 10 %. Следует отметить, что поражение озимой мягкой пшеницы носило локальный характер. При обследовании озимой мягкой пшеницы наблюдалось сильное поражение зоны обсева селекционных питомников сортом Калач 60. Поражение опытных делянок было таковым: край делянки к обсеву был поражен сильнее, чем остальная часть. Наблюдалась локальная инфекция, достигшая сильного развития, но не получившая сильного распространения. Доказательством тому служило поле озимой мягкой пшеницы, находящееся поблизости, где поражение стеблевой ржавчиной не превысило 10 %.

Изучение популяции возбудителя стеблевой ржавчины, выделенной на посевах пшеницы в Саратовской области, позволило выявить изменения в составе генов вирулентности за период с 2016 по 2020 г. (см. таблицу). Анализ эффективности *Sr*-генов был исследован с помощью выделенных из популяций *P. graminis* монопустульных изолятов. Всего по признаку вирулентности охарактеризовано 60 изолятов гриба (по 10 изолятов каждой популяции в год). Существенное варьирование частот вирулентности *P. graminis* отмечено на линиях с генами *Sr9b, Sr9g, Sr12, Sr21, Sr25, Sr27, Sr30, Sr32, Sr33, Sr7a+12, Sr17+13.* К другим используемым в анализе *Sr*-линиям частоты вирулентности оставались стабильно высокими во все годы исследований. В саратовских популяциях *P. graminis* 2017 и 2019 гг., как на экспериментальных полях ФАНЦ Юго-Востока, так и в Лысогорском районе обнаружены патотипы, поражающие линии мягкой пшеницы с геном *Sr31*, тип реакции 3. Однако, учитывая важность этого явления, мы не включили эти

Частота встречаемости различных по вирулентности изолятов в саратовских популяциях P. graminis в 2016–2020 гг.

Линия с геном *Sr*	Частота вирулентных изолятов, %					
	2016 г.		2017 г.		2019 г.	2020
	саратовская популяция	лысогорская популяция (с сорта Прохоровка)	саратовская популяция	лысогорская популяция	лысогорская популяция (с сорта Фаворит)	саратовская популяция
9b	10	10	10	10	10	80
9g	50	50	50	50	100	100
12	50	0	0	30	20	10
21	80	10	10	10	30	90
24	0	0	0	0	10	10
25	0	0	0	30	30	90
27	0	10	0	0	20	90
30	0	50	10	10	0	80
32	0	90	100	100	60	60
33	10	10	10	10	10	80
7a+12	10	90	60	100	100	80
7b+18	50	50	100	100	90	80
17+13	60	100	10	100	10	80
25+31	–	–	0	0	10	20
25+38	–	–	0	0	0	25
25+9g	10	10	20	25	25	10
Satu	0	0	0	0	0	0
Sr2compl, Sr5, Sr6, Sr7b, Sr8a, Sr8b, Sr9a, Sr9d, Sr9e, Sr10, Sr11, Sr13, Sr15, Sr17, Sr20MQ, Sr22, Sr26, Sr28, Sr29, Sr35, Sr36, Sr37, Sr38, Sr39, Sr40, Sr44	100	100	100	100	100	100
Прохоровка	–	10	20	80	30	20
Юго-Восточная 2	–	10	10	0	0	20
Фаворит	–	–	0	10	50	100
Тулайковская 10	–	–			–	90
Белянка	0	10	–	–	20	80
Мироновская 808	–	70	–	–	100	90

данные в таблицу до подтверждения факта дополнительными анализами, в том числе с помощью ДНК-макеров на *Sr31* и ДНК исследований самих монопустульных изолятов патогена. В остальные годы (2016 и 2020) ген *Sr31* был эффективен (тип реакции 0;). Эффективность в популяциях 2016–2020 гг. показали гены и комбинации генов: *Sr24, Sr Satu, Sr25+9g, Sr25+31, Sr25+Sr38.*

В популяциях возбудителя *P. graminis* за 2016–2019 гг. стоит отметить эффективность генов *Sr9b* и *Sr33.* Частота изолятов, вирулентных к линиям с генами *Sr9b* и *Sr33*, составила не более 10 % в популяциях 2016, 2017 и 2019 гг. Однако в популяции 2020 г. для данных генов ситуация сложилась следующим образом: частота встречаемости вирулентных изолятов к линии с геном *Sr33* составила 60 %, а к *Sr9b* – 80 %.

Интересным было поведение гена *Sr9g.* В популяциях 2016 и 2017 гг. частота встречаемости вирулентных изолятов к *Sr9g* в среднем составляла 50 %. В популяциях 2019 и 2020 гг. все изоляты *P. graminis* были вирулен-

тны к гену *Sr9g*. Таким образом, мы наблюдаем потерю эффективности данного гена. Однако комбинация гена *Sr9g* с геном *Sr25* показала свою эффективность на протяжении всего изучаемого периода. Частота встречаемости вирулентных изолятов *P. graminis* к комбинации генов *Sr25+9g* не превышала 25 %.

Неоднозначную реакцию показала линия с геном *Sr25*. В популяции 2016 г., а также в популяциях 2017 г. (собраны с полевого питомника ФАНЦ Юго-Востока, г. Саратов) наблюдалась низкая частота встречаемости изолятов, вирулентных к *Sr25*. Однако в лысогорской популяции 2017 г. и популяции 2019 г. частота встречаемости вирулентных изолятов к *Sr25* составила 30 %, а в популяции 2020 г. достигла 90 %.

Несмотря на высокую частоту встречаемости в популяции *ppSr12* (50 %) и *ppSr21* (80 %) в (саратовской) общей популяции 2016 г., в популяции 2016 г., собранной в Лысогорском районе с пораженных растений сорта Прохоровка, а также в популяциях 2017 и 2019 гг. частота встречаемости изолятов, вирулентных к *Sr12* и *Sr21*, не превышала 30 %. В популяции 2020 г. частота встречаемости изолятов, вирулентных к *Sr12*, также не превышала 10 %, а частота встречаемости изолятов, вирулентных к *Sr21,* составила 90 %.

Неожиданным было поражение генов *Sr27* и *Sr30*. В популяции 2016, 2017 и 2019 гг. частота встречаемости изолятов, вирулентных к *Sr27* и *Sr30*, не превышала 20 %. Однако в популяции 2020 г. 9 из 10 изолятов *P. graminis* оказались вирулентными к *Sr27* и 8 из 10 изолятов к *Sr30*.

Следует отметить, что на протяжении 2016–2019 гг. в популяциях возбудителя *P. graminis* частота встречаемости вирулентных клонов *pp30* была стабильно низкой. Она не превышала 10 %, за исключением популяции 2016 г., собранной в Лысогорском районе с пораженных растений сорта Прохоровка, где частота встречаемости достигала 50 %. В популяции 2020 г. частота встречаемости вирулентных клонов *pp30* составила 90 %.

Анализ вышеприведенных исследований позволяет говорить об увеличении агрессивности саратовских популяций *P. graminis* в 2020 г., либо о заносе воздушными массами на территорию Саратовской области иного инокулюма *P. graminis*.

Возвращаясь к ситуации с геном *Sr31*, необходимо отметить, что обнаруживались растения, пораженные *P. graminis*, в 2017, 2019 и 2020 гг. на сортах Прохоровка и Юго-Восточная 2. Однако, как показали исследования О.А. Барановой и др. [13], сорт Прохоровка является гетерогенным, то есть часть растений несет ген *Sr31*, а часть нет. Подобные исследования на сорте Юго-Восточная 2 не проводились, но такую вероятность исключать нельзя. Таким образом, необходимы дополнительные исследования как фитопатологические, так и на основе ДНК-маркеров. Несмотря на то, что пока мы не можем с полной уверенностью констатировать тот факт, что выявлена именно раса *Ug99*, фитопатологам и селекционерам нужно быть готовыми к ее появлению на территории РФ, чтобы предотвратить тяжелые последствия эпифитотийного развития. Поскольку раса *Ug99*, преодолевшая устойчивость введенного в большинство современных сортов мягкой пшеницы гена *Sr31,* активно эволюционирует и уже вышла за территорию африканского континента (http://rusttracker.cimmyt.org/?page_id=22).

Заключение. В Саратовском регионе в популяциях возбудителя *P. graminis* (2016–2020 гг.) высокоэффективен ген *Sr Satu*, эффективен ген *Sr24* и умеренно эффективны комбинации генов: *Sr25+9g, Sr25+31, Sr25+38.*

Для селекции устойчивых сортов, а также их размещения в зоне возделывания, необходим тщательный мониторинг популяционного состава возбудителя стеблевой ржавчины по частоте встречаемости генов вирулентности. Особенно это касается Саратовского региона, где за последнее десятилетие уже неоднократно наблюдалась вероятная угроза распространения особо опасной расы стеблевой ржавчины *Ug99*.

Многолетнее изучение популяций *P. graminis* показало, что популяции характеризуются высокой изменчивостью. Несмотря на большое количество сортов мягкой пшеницы, рекомендуемых к использованию в Нижневолжском регионе (84 сорта озимой и 25 яровой мягкой пшеницы) [6], достаточного разнообразия по генам устойчивости к стеблевой ржавчине нет. Для расширения генетического разнообразия по устойчивости к стеблевой ржавчине в селекцию пшеницы в Саратовском регионе необходимо привлекать новые эффективные доноры устойчивости, а также исходный материал с генами или сочетаниями генов *Sr Satu*, *Sr24*, *Sr 25+9g*, *Sr25+31*, *Sr25+38.*

В настоящее время исследования популяций возбудителя стеблевой ржавчины по частоте встречаемости генов вирулентности, а также пристальный контроль над выявлением в Саратовской области расы *Ug99* продолжаются.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Баранова О.А., Сибикеев С.Н., Дружин А.Е.* Молекулярная идентификация генов устойчивости к стеблевой ржавчине в интрогрессивных линиях яровой мягкой пшеницы // Генофонд и селекция растений: материалы IV Междунар. конф. – Новосибирск, 2018. – С. 36–40.

2. *Баранова О.А.* Молекулярная идентификация генов устойчивости к стеблевой ржавчине у новых допущенных к использованию сортов пшеницы // Вестник защиты растений. – 2020. – № 103(2). – С. 113–118.

3. *Васильева Н.З., Асхадуллин Дам. Ф.* Эпифитотия стеблевой ржавчины на яровой пшенице в Татарстане // Защита и карантин растений. – 2017. – № 2. – С. 27–28.

4. *Волкова Г.В., Синяк Е.В.* Эффективные гены устойчивости пшеницы к возбудителю стеблевой ржавчины пшеницы на юге России // Наука Кубани. – 2011. – № 2. – С. 34–36.

5. *Волкова Г.В., Кудинова О.А., Мирошниченко О.О.* Стеблевая ржавчина – особо опасное заболевание пшеницы // Достижение науки и техники АПК. – 2020. – Т. 34. – № 1. – С. 20–25.

6. Госреестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Т. 1. Сорта растений. – М., 2021. – С. 5–18.

7. *Койшыбаев М.* Болезни пшеницы. – Анкара: ФАО, 2018. – 365 с.

8. Обнаружение и изучение расы *Puccinia graminis f. sp. tritici Ug99* на территории России / С.Н. Сибикеев [и др.] // Российская сельскохозяйственная наука. – 2016. – № 1. – С. 18–20.

9. Расовый состав новосибирской популяции *Puccinia graminis f. sp. Tritici* / Е.С. Сколотнева [и др.] // Микология и фитопатология. – 2020. – № 54(1) – С. 49–58.

10. *Синяк Е.В.* Генетическая структура популяции возбудителя стеблевой ржавчины пшеницы на Северном Кавказе и генофонд устойчивости растения-хозяина: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. – Саратов, 2013. – 24 с.

11. Создание линий озимой пшеницы с несколькими генами устойчивости к *Puccinia graminis Pers. f. sp. tritici* для использования в селекционных программах России / И.Ф. Лапочкина [и др.] // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2018. – № 22(6). – С. 676–684.

12. A *Thinopyrum intermedium* chromosome in bread wheat cultivars as a source of gene conferring resistance to fungal diseases / E.A. Salina [et al.] // Euphytica, 2015, Vol. 204, No. 1, P. 91–101.

13. *Baranova O.A., Sibikeev S.N., Druzhin A.E.* Molecular identification of the stem rust resistance genes in the introgression lines of spring bread wheat // Vavilov J of Genet and Breeding, 2019, No. 23(3), P. 296–303.

14. Catalogue of Gene Symbols for Wheat / R.A. McIntosh [et al.] // Proceedings of the 12th International Wheat Genetics Symposium, 8-13 September 2013,Yokohama, Japan.

15. Current resistance sources and breeding strategies to mitigate Ug99 threat / R.P. Singh [et al.] // Proceedings of the 11th International Wheat Genetics Symposium, Brisbane, QLD, Australia, 2008.

16. Distribution of Wheat Stem Rust (*Puccinia Graminis F. Sp. Tritici*) in West and Southwest Shewa Zones and Identification of its Physiological Races / A. Hailu [et al.] // Adv Crop Sci Tech., 2015, No. 3, P. 189.

17. Genetic diversity of spring wheat from Kazakhstan and Russia for resistance to stem rust Ug99 / V. Shamanin [et al.] // Euphytica, 2016, Vol. 212, No. 2, P. 287–296.

18. Recent trends and perspectives of molecular markers against fungal diseases in wheat / U. Goutam [et al.] // Frontiers in Microbiol., 2015, Vol. 6, No. 861, P. 1–14.

19. *Stakman E.C., Stewart D.M., Loegering W.Q.* Identification of physiologic races of *Puccinia graminis var. tritici.* // U.S. Agr. Res. Serv., ARS, 1962, E–617, P. 1–53.

20. The reaction of introgression lines of spring bread wheat to leaf rust, stem rust and tan spot in 2016 / S.N. Sibikeev [et al.] // Annual Wheat Newsletter KSU USA, 2017, No. 63, P. 57–58.

Конькова Эльмира Александровна, *канд. с.-х. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунитета растений, ФГБНУ «ФАНЦ Юго-Востока». Россия.*

410010, г. Саратов, ул. Тулайкова, 7.

Тел.: (8452) 64-76-88.

Ключевые слова: *пшеница мягкая; Puccinia graminis f. sp. tritici; популяция патогена; изоляты; Sr-гены; вирулентность / авирулентность; устойчивость.*

CHARACTERISTICS OF THE VIRULENCE OF THE WHEAT STEM RUST PATHOGEN IN THE CONDITIONS OF THE SARATOV REGION

Konkova Elmira Aleksandrovna, *Candidate of Agricultural Sciences, Leading Researcher, Federal Agricultural Research Center for South-East Region. Russia.*

Keywords: *bread wheat; Puccinia graminis f. sp. tritici; pathogen population; isolates; Sr-genes; virulence/avirulence; resistance.*

Stem rust (pathogen - biotrophic fungus Puccinia graminis f. sp. tritici Erikss. & Henning) – a particularly deleterious disease of bread wheat. In this article the results of the analysis of the structure of samples of Saratov populations of wheat stem rust pathogen by signs of virulence during 2016-2020 were presented. A total of 60 pathogen isolates were characterized for virulence. In general, Saratov P. graminis populations were characterized as highly virulent during the study period. The significant variation in the virulence frequencies of P. graminis was observed in lines with the genes Sr9b, Sr9g, Sr12, Sr21, Sr25, Sr27, Sr30, Sr32, Sr33, Sr7a+12, Sr17+13. The other Sr lines used in the analysis, the virulence rates remained consistently high in all the years of research. Genes and combinations of genes: SrSatu, Sr24, Sr25+9g, Sr25+31, Sr25+38 were shown to be effective to P. graminis populations in 2016-2020.