

УДК 632.4.01/.08

ХАРАКТЕРИСТИКА СЕВЕРО-ЗАПАДНОЙ И СЕВЕРОКАВКАЗСКОЙ ПОПУЛЯЦИЙ *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* ПО ВИРУЛЕНТНОСТИ И МИКРОСАТЕЛЛИТНЫМ ЛОКУСАМ В 2022 ГОДУ

© 2024 г. Е. И. Гульгяева^{1,*}, Е. Л. Шайдаюк^{1,**}¹ Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, 196608 Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: eigulyaeva@gmail.com

**e-mail: eshaydayuk@bk.ru

Поступила в редакцию 15.02.2024 г.

После доработки 15.04.2024 г.

Принята к публикации 11.06.2024 г.

Желтая ржавчина (возбудитель – *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, *Pst*) – потенциально опасное заболевание пшеницы. Генетическая защита пшеницы – экологически безопасный метод борьбы. Для ее успешного применения необходима информация о структуре региональных популяций патогена. Цель данных исследований – характеристика вирулентности и молекулярного полиморфизма российских популяций *Pst* в 2022 г. Листья пшеницы с урединопустулами *Pst* получены из Северо-Кавказского (Краснодарский край, Дагестан, Республика Калмыкия) и Северо-Западного (Ленинградская обл.) регионов. Анализ вирулентности проводили на 14 изогенных линиях (AvocetNIL) и 15 сортах-дифференциаторах. При молекулярном анализе оценили полиморфизм 20 микросателлитных локусов. Использовали SSR-маркеры, рекомендуемые Global Rust Reference Center. Изучили вирулентность 74 монопустьных изолятов: 29 дагестанских, 10 краснодарских, 5 калмыцких, 30 северо-западных. Устойчивость ко всем изолятам показали линии с генами *Yr5*, *Yr10*, *Yr15*, *Yr24*, *Yr26* и сорта Мого (*Yr10*, *YrMor*) и Nord Desprez (*Yr3*, *YrND*, *Yr+*). В дагестанской и краснодарской популяциях впервые выделены изоляты, вирулентные к линии AvYr17. В северо-западной популяции они были представлены умеренно (13%). Существенное варьирование наблюдали на линиях и сортах с генами *Yr1* и *Yr3*. Отмечено снижение частот вирулентности к *Yr7* и *YrSp* по сравнению с 2019–2021 гг. 28 фенотипов (рас) определили при анализе вирулентности (15 в дагестанской, 11 в северо-западной, три в краснодарской и две в калмыцкой). Общий фенотип отмечен в трех северокавказских образцах *Pst*. Оценили генетические дистанции между выявленными фенотипами. На многомерной диаграмме большинство из них объединились в общую группу, за исключением трех дагестанских фенотипов с наименьшим числом аллелей вирулентности. Согласно индексу *Fst* высоким сходством характеризовались дагестанская и калмыцкая *Pst* коллекции; другие умеренно отличались от них. Оценили многолетнюю динамику вирулентности (2019–2022 гг.) *Pst* популяций в Северо-Западном и Северо-Кавказском регионах. Высокое сходство определено между всеми региональными образцами популяций 2019 и 2020 гг. Незначительно дифференцировались от них северо-западные и дагестанские в 2021 и 2022 гг. Краснодарские и калмыцкие популяции в 2022 г. выделились в отдельные группы, которые различались между собой и с основной группой. Многолетние результаты анализа вирулентности указывают на высокую динамичность структуры *Pst* популяций в России. При SSR-анализе использовали все северокавказские изоляты и 23 северо-западных. Шесть локусов (RYN3, RYN9, RYN12, WU6, RJO21, RJO24) оказались мономорфными. По три полиморфных аллеля выявлено в локусах RYN13 и RJO27 и по два – в остальных изученных. Значительные отклонения от равновесия Харди-Вайнберга отмечены для большинства локусов. Наблюдаемая гетерозиготность превышала ожидаемую, что для ржавчинных грибов указывает на клональное происхождение популяции. Изученная коллекция изолятов была представлена 20 мультилокусными генотипами (MGs) (дагестанская и северо-западная – по 11, краснодарская – тремя, калмыцкая – одним). Общие генотипы отмечены в дагестанской, краснодарской и северо-западной популяциях (MG_1); дагестанской, калмыцкой и северо-западной (MG_2); дагестанской и краснодарской (MG_3, MG_4). Оценили генетические дистанции между MGs. На многомерной диаграмме они разделились на четыре группы. Основная группа включала 80% MGs. Один дагестанский MG, два северо-западных MG и общий для дагестанской и краснодарской коллекций MG_3 значимо отличались от основной группы и различались между собой. Согласно индексу *Fst* большинство региональных коллекций умеренно дифференцировались между собой, за исключением дагестанской и калмыцкой, что согласуется с анализом вирулентности. Согласно тесту Мантеля выявлена умеренная корреляция результатов анализа вирулентности и SSR ($r = 0.6$). Это указывает на то, что оба анализа могут быть использованы для оценки генетического полиморфизма *Pst*. Высокая изменчивость российских популяций по признаку вирулентности и микросателлитным локусам предопределяет необходимость проведения ежегодного мониторинга региональных популяций *Pst* в России.

Ключевые слова: желтая ржавчина, популяции, SSR-маркеры, *Triticum aestivum*, *Yr*-гены

DOI: 10.31857/S0026364824040062, EDN: uwvxdr

ВВЕДЕНИЕ

Желтая ржавчина (возбудитель – *Puccinia striiformis* West. f. sp. *tritici* Erikss. et Henn., *Pst*) – потенциально опасное заболевание пшеницы. До недавнего времени заболевание имело региональное значение в зонах с умеренным климатом. Эпифитотийное развитие желтой ржавчины наблюдали в годы с прохладной температурой и высокой влажностью воздуха в период вегетации пшеницы. С 2000-х гг. отмечается расширение ареала вредоносности патогена и адаптация к высоким температурам. Эпифитотий болезни регулярно отмечаются в странах Зап. Европы, Сев. и Ю. Америки, Австралии, Африки, Средней и Вост. Азии (Novmøller et al., 2011; Sharma-Poudyal et al., 2013; Kokhmetova et al., 2020). Потери урожая варьируют от 10 до 70% (Chen, 2005; Zhou et al., 2022). Частично это обусловлено появлением новых групп рас, адаптированных к высоким температурам (*PstS1* и *PstS2*). Впервые раса *PstS1* была зарегистрирована в Восточной Африке в середине 1970-х гг. Раса *PstS2* является сестринской линией расы *PstS2*. Вирулентность обеих групп рас сходна. *PstS1* высоко представлена в Сев. Америке и Австралии, *PstS2* – в Азии и Сев. Африке (Walter et al., 2016; Novmøller et al., 2018). В западноевропейских популяциях *PstS2* появилась в 2000-х гг., но не получила широкого распространения (Novmøller et al., 2018, 2020). Высокий эволюционный потенциал и адаптация патогена обуславливают появление новых агрессивных *Pst* рас. Высокая миграционная способность патогена предопределяет их массовое распространение и занос в регионы, где заболевание ранее отсутствовало (Ali et al., 2014).

Повсеместное нарастание вредоносности желтой ржавчины на посевах пшеницы обусловило проведение глобальных популяционных исследований *Pst*. Комплексное изучение образцов *Pst* со всего мира проводится в Дании в Global Rust Reference Center (GRRC) (<https://agro.au.dk/forskning/internationale-platforme/wheatrust/>). Локальные исследования организованы в странах, где заболевание представляет экономическую значимость (США, Китай, Франция, Ю. Африка, Австралия и др.) (Wellings, 2007; Novmøller et al., 2011; Sharma-Poudyal et al., 2013; Chen et al., 2014; Wan et al., 2017; Liu et al., 2021; Malysheva et al., 2022).

Для ржавчинных грибов – облигатных паразитов – наиболее доступным и информативным фенотипическим признаком является вирулентность к специально подобранному сорту и изогенным линиям (Mikhaylova, 2006). Такие наборы подобраны для изучения всех видов возбудителей ржавчины пшеницы, включая *Pst*. В отличие от *P. triticina* Erikss. и *P. graminis* Pers.

лабораторный анализ возбудителя желтой ржавчины осложнен быстрой потерей жизнеспособности спор на сухих листьях пшеницы, что вызывает проблему при размножении патогена. Этот фактор лимитирует лабораторные фитопатологические исследования *Pst* во всем мире (Amil et al., 2020; <https://agro.au.dk/forskning/internationale-platforme/wheatrust/>).

В связи с этим в исследования возбудителя желтой ржавчины стали широко привлекать молекулярные методы. Микросателлитный анализ (simple sequence repeats, SSRs) получил наибольшее практическое использование (Enjalbert et al., 2002). Международный набор, включающий 20 SSR-маркеров, применяют при глобальном скрининге патогена в GRRC и европейских странах (Amil et al., 2020; Ali et al., 2017a). Дополнительные SSR-маркеры используют в региональных исследованиях *Pst* популяций в США, Китае и Ю. Африке. (Bailey et al., 2013; Chen et al., 2009; Cheng et al., 2012, 2016; Liu et al., 2021; Luo et al., 2015; Visser et al., 2015). Чтобы исключить этап размножения спор и увеличить объем анализируемого материала (монопустульных изолятов), предложен метод экстракции ДНК из отдельных урединопустул на листьях пшеницы, собранных в полевых условиях (Ali et al., 2011, 2017a).

В России, как и других странах мира, отмечается нарастание ареала вредоносности *Pst* (Zeleneva et al., 2022; Ivanova et al., 2019; Kokhmetova et al., 2023). Это предопределило проведение региональных исследований популяций патогена (Gulyaeva et al., 2022). В 2019–2021 гг. нами впервые охарактеризована вирулентность *Pst* коллекций, собранных в шести агроэкологических регионах РФ: Северо-Кавказском, Северо-Западном, Нижневолжском, Волго-Вятском, Центральном-Черноземном и Западно-Сибирском. Показано высокое фенотипическое (расовое) разнообразие патогена во всех российских регионах. Общие расы выявлены в географически отдаленных европейских и азиатских популяциях, что указывает на миграцию патогена на данной территории. С использованием SCAR-маркеров в северо-западной популяции в 2020 и в 2022 гг. и в дагестанской в 2022 г. выявлены изоляты, относящиеся к расе *PstS2* (Shaydayuk, Gulyaeva, 2023; Gulyaeva et al., 2023). Эти расы адаптированы к высоким температурам и характеризуются высоким уровнем изменчивости (Amil et al., 2020). Перманентный мониторинг с использованием традиционного анализа вирулентности и привлечением молекулярных маркеров является актуальным для оценки изменчивости региональных популяций *Pst*.

В 2022 г. высокое развитие желтая ржавчины отмечали на селекционных и производственных посевах

пшеницы в Северо-Кавказском и Северо-Западном регионах РФ. Цель данной работы – характеристика вирулентности и молекулярного полиморфизма популяций *Pst* в этих регионах и оценка многолетней динамики их изменчивости.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Инфекционный материал (листья пшеницы с урединиопустулами *Pst*) получили из Северо-Кавказского (СК) и Северо-Западного (СЗ) регионов России. На Сев. Кавказе материал был собран в 2022 г. с коллекционных посевов пшеницы (Дагестанская опытная станция ВИР, Дербентский район; Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко, Краснодарский край) и производственных полей (Калмыкия, Краснодарский край). На Северо-Западе инфекционный материал собран с производственных полей, коллекционных посевов НИИ и Государственных сортоучастков в двух районах Ленинградской области (Ломоносовский и Гатчинский).

Анализ вирулентности. Для возобновления спороношения патогена использовали метод отрезков листьев, помещенных в р-р бензимидазола (Mikhailova et al., 1998; Gulyaeva, Solodukhina, 2008). Кусочки листьев пшеницы с отдельными урединиопустулами раскладывали в чашки Петри и прикрывали ватным валиком, смоченном в р-ре бензимидазола (0.004%). Чашки помещали в холодильник на 2–3 дня при температуре 3–5 градусов для стимулирования спороношения патогена. Размножение изолятов проводили методом микрокамер. Отрезки листьев с отдельными урединиопустулами закрепляли с помощью пищевой пленки на листьях 10–12-дневных растений восприимчивого сорта пшеницы и помещали в темную камеру с температурой 10 °С и влажностью 100%. Через сутки микрокамеры снимали, и растения переносили в климатическую камеру Versatile Environmental Test Chamber MLR-352H со следующими параметрами: 16 ч – день (освещение 15000–20000 люкс, температура 16 °С, влажность 80%) и 8 ч – ночь (температура 10 °С, влажность 70%). Сбор спор проводили на 16–18-й день и далее через 5 дней (до момента усыхания листьев пшеницы). Для проведения анализа вирулентности споры монопустульных изолятов суспензировали в малотоксичной для растений жидкости NOVEC7100 для лучшего их прилипания к листовой поверхности (концентрация 10^6 спор/мл) и с помощью аэрографа опрыскивали 10–12-дневные растения дифференциаторов. Дальнейшее инкубирование зараженных наборов проводили при выше описанных условиях.

При анализе вирулентности использовали 14 почти изогенных линий сорта Avocet и 15

сортов-дифференциаторов (табл. 1) (Hovmøller et al., 2017). Тип реакции определяли по шкале G. Gassner и W. Straib (1926). Растения с баллами 0–2 относили к устойчивым, а 3, 4 и X – к восприимчивым.

Всего изучили 74 монопустульных изолята *Pst*, в том числе 29 дагестанских, 10 краснодарских, 5 калмыкских, 30 северо-западных. Для SSR-анализа использовали все северокавказские изоляты и 23 северо-западных.

SSR-анализ. Выделение ДНК из спорового материала гриба выполнено по методике, описанной А. Justesen и соавторами (2002). Для получения ДНК-экстрактов использовали 5 мг спор каждого изолята *Pst*. Деструкцию спор проводили в гомогенизаторе FastPrep®-24 (MP Biomedicals). В пробирки со спорами добавляли 5 мг стеклянных шариков (Sigma, Glass beads, acid-washed, 71–1.180 мкм) и гомогенизировали 1 мин (6.5 об./мин). При SSR-анализе использовали 20 микросателлитных маркеров, подобранных в GRRC (Ali et al., 2017). Прямые праймеры данных маркеров были помечены флуоресцентными красителями FAM, TAMRA, HEX и ROX. ПЦР проводили в амплификаторе C1000 BioRad при следующих условиях: 95 °С – 3 мин., (95 °С – 30 с, 57 °С – 90 с, 72 °С – 30 с) – 35 циклов, 72 °С – 5 мин. Реакционная смесь (10 µL) содержала 1× Buffer (166mM (NH₄)₂SO₄; 670 mM Tris-HCL (pH 8.8 at 25 °C); 0.1% Tween-20), 1.5 mM MgCl₂, 200 mM dNTP (dCTP, dGTP, dGTP, dATP), 0.7–1 mM каждого праймера, 1U BioTaq полимеразы (5 U/µL; Диалат, <http://dialat.ru>) и 5–10 нг геномной ДНК. Перед постановкой SSR анализа 5 мкл ПЦР продукта анализировали в агарозном геле для определения концентрации. Проба для микросателлитного анализа включала 1 мкл маркера длины (внутренний стандарт S450); 8 мкл формамида и 1 мкл ПЦР-продукта. Генетический анализатор ABI Prism 3500XL (Applied Biosystems) использован для разделения аллелей. Размер аллелей определяли с использованием пакета программ Strand Analysis Software (<https://vgl.ucdavis.edu/STRand>).

Статистический анализ данных. Статистическую обработку результатов проводили в пакетах программ VAT (Virulence Analysis Tool) (Kosman et al., 2008; Schachtel et al., 2012) и GenAlex (Genetic Analysis in Excel 6.5 (Peakall et al., 2012)). VAT использовали для обработки результатов анализа вирулентности. Определяли частоты вирулентности, фенотипы (расы) и их представленность, среднее число аллелей вирулентности в каждой популяции и индексы внутривидового разнообразия (Нея, *Hs*; Шеннона, *Sh*; Космана, *Kw*). Параметры изменчивости популяций по микросателлитным локусам оценивали в пакете программ GenAlex. Определяли

Таблица 1. Частоты вирулентности *Puccinia striiformis* на Сев. Кавказе и Северо-Западе России (2022 г.)

Yr-гены	Линия, сорт пшеницы	Частота вирулентных изолятов <i>P. striiformis</i> (%)				
		СК_Д	СК_Кр	СК_К	Всего СК	Ленинградская обл.
<i>Yr1</i>	<i>Yr1/6*Avocet S</i>	41.4	100	20	52.3	13.3
<i>Yr5</i>	<i>Yr5/6*Avocet S</i>	0	0	0	0	0
<i>Yr6</i>	<i>Yr6/6*Avocet S</i>	100	100	100	100	100
<i>Yr7</i>	<i>Yr7/6*Avocet S</i>	27.6	0	0	18.2	13.3
<i>Yr8</i>	<i>Yr8/6*Avocet S</i>	100	100	100	100	100
<i>Yr9</i>	<i>Yr9/6*Avocet S</i>	86.2	100	100	90.9	93.3
<i>Yr10</i>	<i>Yr10/6*Avocet S</i>	0	0	0	0	0
<i>Yr15</i>	<i>Yr15/6*Avocet S</i>	0	0	0	0	0
<i>Yr17</i>	<i>Yr17/6*Avocet S</i>	13.8	10	0	11.4	13.3
<i>Yr18</i>	<i>Yr18/6*Avocet S</i>	100	100	100	100	100
<i>Yr24</i>	<i>Yr24/6*Avocet S</i>	0	0	0	0	0
<i>Yr26</i>	<i>Yr26/6*Avocet S</i>	0	0	0	0	0
<i>YrSp</i>	<i>YrSP/6*Avocet S</i>	17.2	0	0	11.4	6.7
<i>Yr27</i>	<i>Yr27/6*Avocet S</i>	100	100	100	100	46.7
<i>Yr1</i>	Chinese 166	41.4	100	20	52.3	13.3
<i>Yr7, Yr+</i>	Lee	100	100	100	100	100
<i>Yr6, Yr2</i>	Heines Kolben	100	100	100	100	100
<i>Yr3, Yr+</i>	Vilmorin 23	31	70	100	54.5	73.3
<i>Yr10, YrMor</i>	Moro	0	0	0	0	0
<i>YrSD, Yr+</i>	Strubes Dickkopf	48.3	70	100	65.9	33.3
<i>YrSu, Yr+</i>	Suwon 92/Omar	93.1	100	100	95.5	100
<i>Yr4, Yr+</i>	Hybrid 46	79.3	100	100	86.4	33.3
<i>Yr7, Yr+</i>	Reichersberg 42	79.3	100	100	86.4	73.3
<i>Yr6, Yr+</i>	Heines Peko	79.3	100	100	81.8	80
<i>Yr3, YrND, Yr+</i>	Nord Desprez	0	0	0	0	0
<i>Yr8, Yr19</i>	Compare	65.5	70	80	68.2	73.3
<i>Yr32, Yr+</i>	Carstens V	72.4	100	100	81.8	40
<i>YrSP, Yr+</i>	Spaldings Prolific	13.8	0	0	9.1	6.7
<i>Yr2, Yr+</i>	Heines VII	62.1	100	100	75	66.7
Восприимчивый контроль	Jupateco S, Avocet S	100	100	100	100	100
Число изолятов		29	10	5	44	30

Примечание. СК – Северный Кавказ; Д – Дагестан; Кр – Краснодарский край; К – Калмыкия. *Yr+* сорта имеют дополнительные неидентифицированные *Yr*-гены.

мультилокусные (молекулярные) генотипы (MGs), представленность MGs, число аллелей на локус (N_a), число эффективных аллелей (N_e), ожидаемая (H_e) и наблюдаемая (H_o) гетерозиготность, коэффициент инбридинга (F_{is}) и индекс Шеннона (D). Отклонения фактических частот генотипов от теоретически ожидаемых из соотношения Харди – Вайнберга

оценивали с помощью критерия χ^2 (Chi-Square Tests for Hardy-Weinberg Equilibrium). Генетическая дифференциация между популяциями по вирулентности и микросателлитным локусам выполнена по индексу F_{st} , вычисленному с помощью алгоритма AMOVA. Тест Мантеля использован для сравнения результатов микросателлитного анализа и вирулентности.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ вирулентности

Частоты вирулентности *Pst* к AvNIL и сортам-дифференциаторам показаны в табл. 1. Изоляты, вирулентные к линиям с генами *Yr5*, *Yr10*, *Yr15*, *Yr24*, *Yr26* и сортам Moro (*Yr10*, *YrMor*) и Nord Desprez (*Yr3*, *YrND*, *Yr+*), не выявлены. Устойчивые линии и сорта могут быть рекомендованы для селекции пшеницы на устойчивость к желтой ржавчине в России. В дагестанской и краснодарской популяциях впервые отмечены изоляты, вирулентные к линии Avocet с геном *Yr17*. В северо-западной популяции они имели умеренную встречаемость (13.3%), как и в предыдущие годы (Gulyaeva et al., 2022). Сорта с геном *Yr17* возделываются в Центральном, Центральном-Черноземном и Северо-Кавказском регионах (Морозко, Сварог, Маркиз, Гомер, Приз, Раздолье, Немчиновская 25, Токката, Одетта, Гаренда) (Gulyaeva, Shaydayuk, 2023). Большинство из них устойчивы к желтой ржавчине (<https://gossortrf.ru/publication/reestry.php>). Расширение зоны вирулентности к *Yr17* указывает на возможную потерю эффективности этого гена в России.

Стабильно высокие частоты вирулентности отмечены на линиях AvNIL с генами *Yr6*, *Yr8*, *Yr9*, *Yr18*, *Yr27* и сортах-дифференциаторах Lee, Heines Kolben, Suwon 92/Omar, Hybrid 46, Heines VII, Heines Peko, Reichersberg 42, Compare, Carstens V в 2019–2022 гг. Существенное варьирование наблюдали на линиях и сортах с генами *Yr1*, *Yr3*, *Yr7* и *YrSp*. Вирулентность к *Yr1* в 2022 г. осталась без изменений в дагестанской и краснодарской популяциях (42 и 41.4%; 95 и 100%; 2019–2021 гг. и 2022 г. соответственно), но снизилась в северо-западной популяции (55 и 13.3%). В дагестанской популяции в 2022 г. отмечено существенное снижение частоты вирулентности к сорту Vilmorin 23 (*Yr3*) (69 и 24.1%). В северокавказских *Pst* коллекциях они остались стабильно высокими. В обоих регионах отмечено снижение частот изолятов, вирулентных к линиям Av*Yr7* (СК: 76 и 18.2%; СЗ: 95 и 13.3%) и Av*YrSp* (СК: 69 и 9.1%; СЗ: 29 и 6.7%).

Показатели внутривидовой популяционной разнообразия изученных популяций по признаку вирулентности представлены в табл. 2. 28 фенотипов (рас) определено в региональных коллекциях изолятов. Наибольшее число фенотипов (15) выявлено в дагестанской популяции. Частота доминирующего фенотипа составила 14%. 11 фенотипов встречались с частотой 7%. Три фенотипа были единичными (один фенотип – один изолят). В северо-западной популяции выявлено 11 фенотипов, среди них два были наиболее представленными (27 и 13%). Другие

девять фенотипов встречались с частотой 7%. В краснодарской *Pst* коллекции определено три фенотипа (частота 70, 20 и 10%), в калмыцкой – два (частота 80 и 20%). Один общий фенотип выявлен в дагестанской, краснодарской и калмыцкой популяциях. Оценили генетическое родство между фенотипами (опция Genetic distance, GenAlex). На многомерной диаграмме (рис. 1) большинство из них сгруппировались в один кластер, за исключением трех дагестанских фенотипов с наименьшим числом аллелей вирулентности.

Изученная коллекция изолятов характеризовалась высоким внутривидовой популяционной разнообразием по признаку вирулентности (индексы *Hs*, *Sh*, *Kw*) (табл. 2), что согласуется с результатами предыдущих лет исследований (Gulyaeva et al., 2022). Согласно индексу *Fst* высоким сходством характеризовались дагестанская и калмыцкая *Pst* коллекции ($Fst = 0.06$, $P = 0.08$); другие умеренно отличались от них. Многолетняя динамика изменчивости региональных *Pst* популяций в 2019–2022 гг. представлена на диаграмме (рис. 2). Высоким сходством характеризовались все образцы популяций в 2019 и 2020 гг. Северо-западные и дагестанские популяции в 2021 и 2022 гг. незначительно отличались от них. Краснодарские и калмыцкие популяции в 2022 г. выделились в отдельные группы, которые различались между собой и отличались от основной группы. Многолетние результаты анализа вирулентности указывают на высокую изменчивость структуры *Pst* популяций в России.

SSR-анализ

Для генотипирования *Pst* изолятов использовали 20 микросателлитных маркеров (Ali et al., 2017). Шесть локусов (RYN3, RYN9, RYN12, WU6, RJO21, RJO24) оказались мономорфными. Для маркеров RYN3, RYN9, RYN12, WU6 наши результаты согласуются с полученными в других странах, где также определена их низкая дифференцирующая способность (Amil et al., 2020). По три аллеля определено в локусах RYN13 и RJO27 и по два – в остальных изученных (табл. 2). Значительные отклонения от равновесия Харди – Вайнберга отмечены для большинства локусов (табл. 2). Наблюдаемая гетерозиготность превышала ожидаемую, что для ржавчинных грибов указывает на клональное происхождение популяций.

Показатели полиморфизма по микросателлитным локусам для каждой из популяций представлены в табл. 2. Всего определено 20 мультилокусных генотипов (MGs). Дагестанская и северо-западная популяции были представлены одиннадцатью MGs, краснодарская – тремя MGs, калмыцкая – одним MG. Общие MGs обнаружены в дагестанской, краснодарской

Таблица 2. Показатели внутривидового генетического разнообразия популяций *Puccinia striiformis* по признаку вирулентности и микросателлитным локусам в 2022 г.

Показатель	Д	К	Кр	СЗ
Анализ вирулентности				
Число изолятов	29	5	10	30
Число фенотипов	15	2	2	11
Частота доминантного фенотипа, %	14	80	70	27
Среднее число аллелей вирулентности	14.5	16.2	17.8	12.8
Индексы внутривидового генетического разнообразия:				
Индекс Нея, H_s	0.21	0.03	0.02	0.18
Индекс Шеннона, H'	0.79	0.31	0.35	0.66
Индекс Космана, K_w	0.29	0.04	0.03	0.26
Доминирующие фенотипы и их представленность (%)				
№ 1	7	20	30	0
№ 2	0	0	70	0
SSR-анализ				
Число изолятов	29	5	10	30
Число мультилокусных генотипов (MG)	11	1	3	11
Частота доминантного MG	27	100	40	17
Среднее число аллелей на локус (N_a)	1.6	1.4	1.6	1.6
Число эффективных аллелей (N_e)	1.4	1.4	1.4	1.4
Наблюдаемая гетерозиготность (H_o)	0.34	0.34	0.37	0.32
Ожидаемая гетерозиготность (H_e)	0.18	0.2	0.24	0.21
Коэффициент инбридинга (F_{is})	-0.41	-0.41	-0.52	-0.42
Процент полиморфных локусов	61	35	57	61
Доминирующие MG и их представленность (%):				
MG_1	7	0	30	9
MG_2	14	100	0	9
MG_3	7	0	40	0
MG_4	3	0	30	0
MG_5	28	0	0	0
MG_6	0	0	0	17

Примечание. СК – Северный Кавказ; Д – Дагестан; Кр – Краснодарский край; К – Калмыкия.

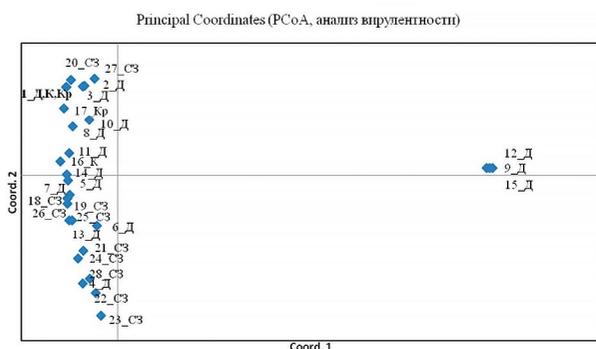


Рис. 1. Генетические расстояния между фенотипами вирулентности *Puccinia striiformis* в 2022 г. (индекс F_{st}): Д – Дагестан; Кр – Краснодар; К – Калмыкия; СЗ – Северо-Западный регион (Ленинградская обл.). Жирным шрифтом выделен фенотип вирулентности, отмеченный в нескольких популяциях.

и северо-западной коллекциях (MG_1); в дагестанской, калмыцкой и северо-западной (MG_2); в дагестанской и краснодарской (MG_3, MG_4) выборках. Частота этих генотипов представлена в табл. 2. Молекулярное разнообразие изученных популяций было несколько ниже, чем по признаку вирулентности (табл. 2).

Оценили генетическое родство между мультилокусными генотипами (GenAlEx, опция Genetic Distance) (рис. 3). На многомерной диаграмме SSR-генотипы кластеризовались в четыре группы. Основная группа включала 80% MGs. Один дагестанский MG, два северо-западных MGs и MG_3, общий для дагестанской и краснодарской коллекции, значительно отличались от основной группы и различались между собой.

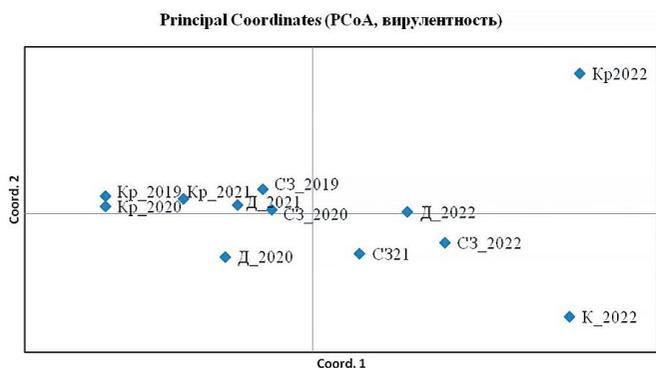


Рис. 2. Генетические расстояния между региональными коллекциями *Puccinia striiformis* в 2019–2022 гг. по признаку вирулентности (индекс *Fst*): Д – Дагестан; Кр – Краснодар; К – Калмыкия; СЗ – Северо-Западный регион (Ленинградская обл.).

Показатели внутривидового разнообразия по микросателлитным локусам (среднее число аллелей на локус и число полиморфных аллелей) были близкими во всех проанализированных *Pst* коллекциях (табл. 2). Наблюдаемая гетерозиготность была выше ожидаемой для отдельных популяций и для

всей коллекции в целом (табл. 2, 3). Коэффициент инбридинга имел отрицательные значения, что подтверждает клональное происхождение популяций и отсутствие половой стадии на промежуточном растении-хозяине. Эти результаты согласуются с популяционными исследованиями возбудителей бурой и стеблевой ржавчины пшеницы в России (Gulyaeva et al., 2017; Skolotneva et al., 2023), а также желтой ржавчины в других странах (Amil et al., 2020; Ali et al., 2014).

Наиболее представленные молекулярные генотипы MG_1 и MG_4 включали изоляты, относящиеся к трем фенотипам вирулентности; MG_2 – к шести фенотипам; MG_3 – к двум фенотипам; MG_5 – к четырем фенотипам. Изоляты, относящиеся к фенотипу вирулентности № 1, отмеченному во всех северокавказских *Pst* коллекциях, были представлены тремя молекулярными генотипами (MG_2, MG_4, MG_5). Широко распространенный в краснодарской популяции фенотип № 2 включал два молекулярных генотипа (MG_1, MG_3). Следует отметить, что дагестанские и северо-западные изоляты, ранее отнесенные к инвазивной группе *PstS2* (Gulyaeva et al., 2023a, 2023b), относились к молекулярным генотипам

Таблица 3. Характеристика SSR локусов при изучении российских популяций *Puccinia striiformis* (2022 г.)

SSR локус	Повтор (пн)	No аллелей	Размер аллелей (пн)	Гетерозиготность ^a		Коэффициент инбридинга F_{IS} ^б	χ^2 ^б
				H_o	H_e		
RYN2	2	2	170–172	0.12	0.11	–0.06	ns
RYN3	2	1	347	0	0		
RYN4	2	2	260–262	0.28	0.24	–0.16	ns
RYN5	2	2	222–224	0.27	0.23	–0.15	ns
RYN6	3	2	316–319	0.91	0.5	–0.82	***
RYN8	3	2	308–311	0.94	0.5	–0.89	***
RYN9	2	1	337	0	0	#Н/Д	
RYN10	3	2	226–229	0.79	0.5	–0.59	***
RYN11	2	2	175–177	0.78	0.47	–0.63	***
RYN12	3	1	198	0	0		
RYN13	3	3	153–165	0.16	0.15	–0.09	ns
RYO3	2	2	204–206	1	0.5	–1	***
RJO4	2	2	206–208	0.13	0.15	0.11	ns
RYO18	3	2	334–340	0.94	0.5	–0.89	***
RJO20	3	2	287–290	0.34	0.28	–0.21	ns
RJO21	3	1	176	0	0		
RJO24	3	1	287	0	0		
RJO27	2	3	230–243	0.07	0.22	0.66	***
WU6	2	1	209	0	0		
WU12	3	2	326–329	1	0.5	–1	***

Примечание. ^a H_o – наблюдаемая гетерозиготность; H_e – ожидаемая гетерозиготность; ^б F_{IS} = (среднее значение H_o – среднее значение H_e)/среднее значение H_e ; ^бЗначимость отклонений от равновесия Харди – Вайнберга согласно χ^2 ; ns = незначительные; *** $P < 0.001$.

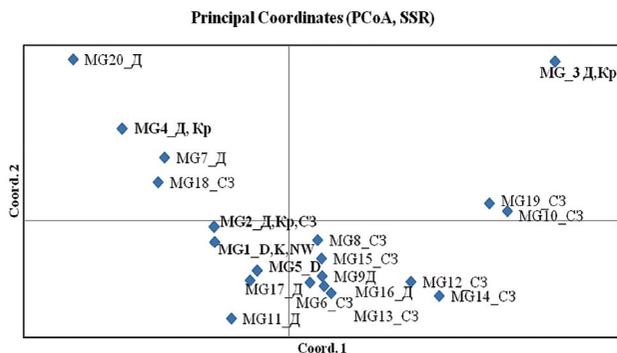


Рис. 3. Генетические расстояния между молекулярными генотипами *Puccinia striiformis* в 2022 г. по SSR-анализу (индекс *Fst*). Происхождение: Д – Дагестан; Кр – Краснодар; К – Калмыкия; С3 – Северо-Западный регион (Ленинградская обл.). Жирным шрифтом выделены молекулярные генотипы (MG), отмеченные в нескольких популяциях.

MG_5 и MG_2 соответственно. Полученные данные указывают на отсутствие корреляции между фенотипами вирулентности и MGs. Аналогичные результаты получены при изучении популяций в Сирии, Ливане (Amil et al., 2020) и США (Liu et al., 2021).

Согласно индексу *Fst*, региональные коллекции умеренно различались между собой по микросателлитам, за исключением дагестанской и калмыцкой ($Fst = 0.12$, $P = 0.05$), что согласуется с результатами анализа вирулентности. Тест Мантеля применили для сравнения результатов популяционных исследований *Pst* по вирулентности и микросателлитам (по индексу *Fst*). Умеренная корреляция выявлена между результатами двух анализов ($r = 0.61$). Это указывает на то, что оба анализа могут быть использованы для оценки генетического полиморфизма *Pst*. Полученные результаты согласуются с ранее проведенными исследованиями для возбудителя бурой ржавчины пшеницы (Gulyaeva et al., 2017).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Охарактеризован полиморфизм по вирулентности и микросателлитным локусам у популяций *Pst*, собранных в Северо-Кавказском и Северо-Западном регионах в 2022 г. Показано высокое генетическое разнообразие региональных коллекций по обоим маркерам. Полиморфизм по вирулентности был несколько выше, чем в SSR-анализе, что согласуется с результатами популяционных исследований *Pst* в других странах (Ali et al., 2017b; Amil et al., 2020). Высокое генетическое разнообразие возделываемых в разных регионах сортов пшеницы предопределяет высокую изменчивость патогена и оказывает существенное влияние на

результаты анализа вирулентности. Микросателлитные маркеры селективно нейтральны, имеют кодоминантное наследование и высокую воспроизводимость результатов, в связи с чем, они могут служить дополнительным инструментом для комплексного анализа популяций. Применение их в глобальном скрининге в Global Rust Reference Center позволило уточнить центр происхождения патогена, направления миграции и детально охарактеризовать другие микроэволюционные процессы в популяциях *Pst* (Ali et al., 2014, 2017b).

В большинстве регионов мира патоген имеет неполный цикл развития. Половая стадия определена только для популяций *Pst* из предгорных районов Гималаев (Ali et al., 2014, 2017b). Полученные нами результаты о клональном происхождении популяций патогена в России согласуются с мировыми исследованиями.

В нашей работе подтверждена высокая миграционная способность патогена. При анализе вирулентности общие фенотипы выявлены в географически отдаленных точках Северного Кавказа (Дагестан, Краснодар, Калмыкия). При молекулярном анализе идентичные SSR генотипы обнаружены на Северном Кавказе и Северо-Западе.

В глобальном скрининге *Pst* в GRRC российские изоляты отсутствовали, но широко был представлен материал из приграничных с Россией стран: Латвии, Литвы, Украины, Узбекистана, Азербайджана и Финляндии (<https://agro.au.dk/forskning/internationale-plattform/wheatrust>). В каждой из этих стран идентифицирован определенный набор *Pst* рас и общая для всех раса *PstS7* (Warrior). *PstS7* впервые обнаружена в Западной Европе в 2011 г. Она вирулентна к линиям с генами *Yr1*, *Yr2*, *Yr3*, *Yr4*, *Yr6*, *Yr7*, *Yr9*, *Yr17*, *Yr25*, *Yr32*, *YrSp* и авирулентна к *Yr5*, *Yr8*, *Yr10*, *Yr15*, *Yr24*, *Yr27*. Спектр вирулентности многих российских *Pst* изолятов был близок к этой расе, но отличался вирулентностью к *Yr8*, *Yr27*, и авирулентностью к *Yr17*, *YrSp*. В Global Rust Research Centre идентификация этой и других групп рас проводится с использованием анализа вирулентности и микросателлитных маркеров. Характеристика вирулентности новых рас представляется в ежегодных отчетах (<https://agro.au.dk/forskning/internationale-plattform/wheatrust>). При этом информация о результатах молекулярного тестирования (размеров идентифицируемых аллелей, SSR генотипах) и ключа для сопоставления анализа вирулентности и молекулярного в открытом доступе не отражена. Это не позволяет сравнить результаты молекулярного анализа российских популяций с полученными в других странах.

Проведенный комплексный анализ указывает на определенные изменения российских региональных популяций в 2021–2022 гг. по сравнению с предыдущим периодом (2019–2020 гг.). Высокая изменчивость патогена определяет необходимость проведения ежегодного мониторинга региональных популяций патогена с использованием признака вирулентности и молекулярных маркеров.

Исследования поддержаны Российским научным фондом, проект № 19-76-30005. Благодарим всех коллег за присланный инфекционный материал возбудителя желтой ржавчины.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ali S., Gautier A., Leconte M. et al. A rapid genotyping method for an obligate fungal pathogen, *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, based on DNA extraction from infected leaf and Multiplex PCR genotyping. BMC Research Notes. 2011. V. 4. P. 240. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-4-240>
- Ali S., Gladieux P., Leconte M. et al. Origin, migration routes and worldwide population genetic structure of the wheat yellow rust pathogen *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. PLOS Pathog. 2014. V. 10. (1). P. e1003903. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003903>
- Ali S., Khan M.R., Gautier A. et al. Microsatellite genotyping of the wheat yellow rust pathogen *Puccinia striiformis*. In: Sambasivam Periyannan (ed.). Wheat rust diseases: methods and protocols, methods in molecular biology. V. 1659. N.Y., 2017a, pp. 59–70.
- Ali S., Rodriguez-Algaba J., Thach T. et al. Yellow rust epidemics worldwide were caused by pathogen races from divergent genetic lineages. Front. Plant Sci. 2017b. V. 8. P. 1057. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01057>
- Amil R.E., Ali S., Bahri B. et al. Pathotype diversification in the invasive *PstS2* clonal lineage of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* causing yellow rust on durum and bread wheat in Lebanon and Syria in 2010–2011. Plant Pathol. 2020. V. 69 (4). P. 618–630. <https://doi.org/10.1111/ppa.13164>
- Bailey J., Karaoglu H., Wellings C. et al. Isolation and characterisation of 25 genome-derived simple sequence repeat markers for *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. Mol. Ecol. Resour. 2013. V. 13 (4). P. 760–762. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12121>
- Chen C.Q., Zheng W.M., Buchenauer H. et al. Isolation of microsatellite loci from expressed sequence tag library of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. Mol. Ecol. Resour. 2009. V. 9 (1). P. 236–238. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2008.02423.x>
- Chen W., Wellings C., Chen X. et al. Wheat stripe (yellow) rust caused by *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. Mol. Plant Pathol. 2014. V. 15 (5). P. 433–446 <https://doi.org/10.1111/mpp.12116>
- Chen X.M. Epidemiology and control of stripe rust (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) on wheat. Can. J. Plant Pathol. 2005. V. 27 (3). P. 314–337. <https://doi.org/10.1080/07060660509507230>
- Cheng P., Chen X.M., See D.R. Grass hosts harbor more diverse isolates of *Puccinia striiformis* than cereal crops. Phytopathology. 2016. V. 106. P. 362–371. <https://doi.org/10.1094/phyto-07-15-0155-R>
- Cheng P., Chen X.M., Xu L.S. et al. Development and characterization of expressed sequence tag-derived microsatellite markers for the wheat stripe rust fungus *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. Mol Ecol Resour. 2012. V. 12 (4). P. 779–781. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2012.03155.x>
- Enjalbert J., Duan X., Giraud T. et al. Isolation of twelve microsatellite loci, using an enrichment protocol, in the phytopathogenic fungus *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. Mol. Ecol. Notes. 2002. V. 2 (4). P. 563–565. <https://doi.org/10.1046/j.1471-8286.2002.00322.x>
- Gassner G., Straib W. Untersuchungen über die Infektionsbedingungen von *Puccinia glumarum* und *Puccinia graminis*. Arb. Biol. Reichsanst. Land-Forst-wirtsch Berlin-Dahlem. 1929. V. 16 (4). P. 609–629.
- GRRC – Global Rust Reference Center. <https://agro.au.dk/forskning/internationale-plattform/wheatrust>. Accessed 22.01.2024.
- Gulyaeva E., Shaydayuk E. Resistance of modern Russian winter wheat cultivars to yellow rust. Plants. 2023, V. 12 (19). P. 3471. <https://doi.org/10.3390/plants12193471>
- Gulyaeva E.I., Solodukhina O.V. Rusts diseases in cereals. Izuchenie geneticheskikh resursov zernovykh kultur po ustojchivosti k vrednym organizmam. 2008. P. 5–11 (In Russ.).
- Gulyaeva E.I., Aristova M.K., Shaydayuk E.L. et al. Genetic differentiation of *Puccinia triticina* Erikss. in Russia. Russ. J. Genet. 2017. V. 53 (9). P. 998–1005. <https://doi.org/10.1134/s1022795417070031>
- Gulyaeva E.I., Shaydayuk E.L., Smirnova R.E. et al. Virulence diversity of the yellow rust pathogen population in Dagestan. Proceed. Appl. Botany, Genetics and Breeding. 2023. V. 184 (4). P. 190–204. <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2023-4-190-204>
- 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. V. 12 (11). P. 1957. <https://doi.org/10.3390/agriculture12111957>
- Hovmøller M.S., Rodriguez-Algaba J., Thach T. et al. Report for *Puccinia striiformis* race analyses and molecular genotyping 2017. 2018. GRRC, Aarhus University, Denmark. https://agro.au.dk/fileadmin/Summary_of_Puccinia_striiformis_race_analysis_2017.pdf. Accessed 22.01.2024.
- Hovmøller M.S., Patpour M., Rodriguez-Algaba J. et al. Stem- and yellow rust genotyping and race analyses. 2020. GRRC, Aarhus University, Denmark. Available at: https://agro.au.dk/fileadmin/www.grcc.au.dk/International_Services/Pathotype_YR_results/Summary_

- of *Puccinia striiformis* molecular genotyping_2018.pdf. Accessed 22.01.2024.
- Hovmöller M.S., Rodriguez-Algaba J., Thach T. et al. Race typing of *Puccinia striiformis* on wheat. In: Sambasivam Periyannan (ed.). Wheat rust diseases: methods and protocols, methods in molecular biology. V. 1659. N.Y., 2017, pp. 29–40.
- Hovmöller M.S., Sørensen C.K., Walter S., Justesen A.F. Diversity of *Puccinia striiformis* on cereals and grasses. Annu. Rev. Phytopathol. 2011. V. 49 (1). P. 197–217. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-072910-095230>
- Ivanova Yu.N., Rosenfread K.K., Stasyuk A.I. et al. Raise and characterization of a bread wheat hybrid line (Tulaykovskaya 10 × Saratovskaya 29) with chromosome 6Agi2 introgressed from *Thinopyrum intermedium*. Vavilov J. Genet. Breed. 2021. V. 25 (7). P. 701–712 (In Russ.). <https://doi.org/10.18699/VJ21.080>
- Justesen A.F., Ridoutb C.J., Hovmöller M.S. The recent history of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in Denmark as revealed by disease incidence and AFLP markers. Plant. Pathol. 2002. V. 51 (1). P. 13–23. <https://doi.org/10.1046/j.0032-0862.2001.00651.x>
- Kokhmetova A., Rathan N.D., Sehgal D. et al. QTL mapping for seedling and adult plant resistance to stripe and leaf rust in two winter wheat populations. Front. Genet. 2023. V. 14. P. 1265859. <https://doi.org/10.3389/fgene.2023.1265859>
- Kokhmetova A.M., Atishova M.N., Galymbek K. Identification of wheat germplasm resistant to leaf, stripe and stem rust using molecular markers. Bulletin of NAS RK. 2020. V.2 (384). P. 45–52. <https://doi.org/10.32014/2020.2518-1467.40>
- Kosman E., Dinoor A., Herrmann A. et al. Virulence Analysis Tool (VAT). User Manual. 2008. <https://en-lifesci.tau.ac.il/profile/kosman>. Accessed 22.01.2024.
- Liu Y., Bai Q., Wang M. et al. Genotyping *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* isolates with SSR and SP-SNP markers reveals dynamics of the wheat stripe rust pathogen in the United States from 1968 to 2009 and identifies avirulence associated markers. Phytopathology. 2021. V. 111 (10). P. 1828–1839. <https://doi.org/10.1094/phyto-01-21-0010-R>
- Luo H., Wang X., Zhan G. et al. Genome-wide analysis of simple sequence repeats and efficient development of polymorphic SSR markers based on whole genome re-sequencing of multiple isolates of the wheat stripe rust fungus. PLOS One. 2015. V. 10 (6). P. e0130362. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130362>
- Malysheva A.A., Kokhmetova A.M., Kumarbayeva M.K. et al. Identification of carriers of *Puccinia striiformis* resistance genes in the population of recombinant inbred wheat lines. International J. Biol. Chem. 2022. 15(1). P. 4–10. <https://doi.org/10.26577/ijbch.2022.v15.i1.01>
- Mikhaylova L.A. Genetics of relationship of leaf rust activator and wheat. By M.M. Levitin (ed.). SPb., VIZR, 2006 (In Russ.).
- Mikhaylova L.A., Gulyaeva E.I., Mironenko N.V. Methods for studying the structure of populations of the leaf rust causative agent. In: Guidelines for plant protection. VIZR, St. Petersburg, 1998, pp. 105–126 (In Russ.).
- Peakall R., Smouse P.E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. Bioinformatics. 2012. V. 28. P. 2537–2539. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>
- Schachtel G.A., Dinoor A., Herrmann A. et al. Comprehensive evaluation of virulence and resistance data: a new analysis tool. Plant Dis. 2012. 96 (7). P. 1060–1063. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-12-0114-SR>
- Sharma-Poudyal D., Chen X.M., Wan A.M. et al. Virulence characterization of international collections of the wheat stripe rust pathogen, *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. Plant Dis. 2013. V. 97 (3). P. 379–386. <https://doi.org/10.1094/pdis-01-12-0078-re>
- Shaydayuk E.L., Gulyaeva E.I. Characterization of the Northwestern population of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* on the basis of virulence and representation of invasive *PstS1* and *PstS2* races. Mikologiya i fitopatologiya. 2023. V. 57 (6). P. 435–446 (In Russ.). <https://doi.org/10.31857/S0026364823060>
- Skolotneva E.S., Kosman E., Kelbin V.N. et al. SSR Variability of stem rust pathogen on spring bread wheat in Russia. Plant Dis. 2023. V. 107 (2). P. 493–499. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-22-2373-RE>
- State commission of the Russian Federation for testing and protection of breeding achievements (FSBI “Gossortkommissiya”). <https://gossortrf.ru/publication/reestry.php>. Accessed 22.01.2024.
- Strand Analysis Software. <https://vgl.ucdavis.edu/STRand>. Accessed 22.01.2024.
- Visser B., Herselman L., Pretorius Z.A. Microsatellite characterisation of South African *Puccinia striiformis* races. South African J. Plant and Soil. 2016. V. 33 (3). P. 161–166. <https://doi.org/10.1080/02571862.2015.1125957>
- Walter S., Ali S., Kemen E. et al. Molecular markers for tracking the origin and worldwide distribution of invasive strains of *Puccinia striiformis*. Ecol. Evol. 2016. V. 6 (9). P. 2790–2804. <https://doi.org/10.1002/ece3.2069>
- Wan A., Muleta K.T., Zegeye H. et al. Virulence characterization of wheat stripe rust fungus *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in Ethiopia and evaluation of Ethiopian wheat germplasm for resistance to races of the pathogen from Ethiopia and the United States. Plant Dis. 2017. V. 101 (1). P. 73–80. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-16-0371-RE>
- Wellings C.R. *Puccinia striiformis* in Australia: A review of the incursion, evolution and adaptation of stripe rust in the period 1979–2006. Austr. J. Agric. Res. 2007. V. 58 (6). P. 567–575. <https://doi.org/10.1071/AR07130>
- Zeleneva Y.V., Sudnikova V.P., Buchneva G.N. Immunological characteristics of soft winter wheat varieties in conditions of the CBR. Trudy Kubanskogo Gosudarstvennogo Agrarnogo Universiteta. 2022. N 96. P. 95–99 (In Russ.). <https://doi.org/10.21515/1999-1703-96-95-99>

- Zhou X., Fang T., Li K. et al. Yield losses associated with different levels of stripe rust resistance of commercial wheat cultivars in China. *Phytopathology*. 2022. V. 112 (6). P. 1244–1254. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-21-0286-R>
- Гультяева Е.И., Солодухина О.В. (Gulyaeva, Solodukhina) Ржавчинные болезни зерновых культур // Изучение генетических ресурсов зерновых культур по устойчивости к вредным организмам. 2008. С. 5–11.
- Гультяева Е.И., Шайдаюк Е.Л., Смирнова Р.Е. и др. (Gulyaeva et al.) Разнообразие дагестанской популяции возбудителя желтой ржавчины пшеницы по вирулентности // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2023. Т. 184 (4). С. 190–204.
- Зеленева Ю.В., Судникова В.П., Бучнева Г.Н. (Zeleneva et al.) Иммунологическая характеристика сортов озимой мягкой пшеницы в условиях ЦЧР // Труды Кубанского государственного аграрного университета. 2022. № 96. С. 95–99.
- Иванова Ю.Н., Розенфрид К.К., Стасюк А.И. и др. (Ivanova et al.) Получение и характеристика линии мягкой пшеницы (Тулайковская 10 × Саратовская 29) с интрогрессией хромосомы пырея *Thinopyrum intermedium* 6Agi2 // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2021. Т. 25 № 7. С. 701–712.
- Михайлова Л.А. (Mikhaylova) Генетика взаимоотношений возбудителя бурой ржавчины и пшеницы / Под ред. акад. РАСХН М.М. Левитина. СПб.: ВИЗР, 2006. 80 с.
- Михайлова Л.А., Гультяева Е.И., Мироненко Н.В. (Mikhailova et al.) Методы исследований структуры популяции возбудителя бурой ржавчины пшеницы // Сборник методических рекомендаций по защите растений. СПб.: ВИЗР; 1998. С. 105–126.
- Шайдаюк Е.Л., Гультяева Е.И. (Shaydayuk, Gulyaeva) Характеристика северо-западной популяции *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* по признаку вирулентности и представленности инвазивных рас PstS1 и PstS2 // Микология и фитопатология. 2023. Т. 57. № 6. С. 435–446.

Diversity of Northwestern and North Caucasian Populations of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* by Virulence and Microsatellite Loci in 2022

E. I. Gulyaeva^{a,#} and E. L. Shaydayuk^{2,##}

^a All-Russian Institute for Plant Protection, St. Petersburg, Russia

[#]e-mail: eigulyaeva@gmail.com

^{##}e-mail: eshaydayuk@bk.ru

Yellow rust (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, *Pst*) is a potentially dangerous disease of wheat. Genetic protection of wheat is an environmentally safe method of control. For its successful application, information on the structure of regional populations of the pathogen is needed. The purpose of these studies is to characterize the virulence and molecular polymorphism of Russian *Pst* populations in 2022. Wheat leaves with *Pst* urediniopustules were obtained from the North Caucasus (Krasnodar Territory, Dagestan, Kalmykia) and Northwestern (Leningrad region) regions. Virulence analysis was performed on 14 isogenic lines (AvocetNIL) and 15 differentiator varieties. The polymorphism of 20 microsatellite loci was evaluated in molecular analysis. We used SSR markers recommended by the Global Rust Reference Center. Virulence was studied in 74 monopustular isolates: 29 Dagestan, 10 Krasnodar, 5 Kalmyk, 30 northwestern. Resistance to all isolates was shown for lines with genes *Yr5*, *Yr10*, *Yr15*, *Yr24*, *Yr26* and varieties Moro (*Yr10*, *YrMor*) and Nord Desprez (*Yr3*, *YrND*, *Yr+*). Isolates virulent to the *AvYr17* line were detected for the first time in Dagestan and Krasnodar populations. They were moderately represented in the northwestern population (13%). Significant variation was observed in lines and varieties with the *Yr1* and *Yr3* genes. There was a decrease in virulence to *Yr7* and *YrSp* compared to 2019–2021. 28 phenotypes (races) were determined in the virulence analysis (15 in Dagestan, 11 in North West, 3 in Krasnodar and 2 in Kalmyk). A common phenotype was noted for three North Caucasian *Pst* samples. The genetic distances between the identified phenotypes were estimated. In the multidimensional diagram, most of them combined together in a common group, with the exception of three Dagestan phenotypes with the fewest virulence alleles. According to the *Fst* index, Dagestan and Kalmyk *Pst* collections were characterized by high similarity; others differed moderately from them. The long-term virulence dynamics (2019–2022) of *Pst* populations in the Northwestern and North Caucasian regions was assessed. High similarity was determined between all regional population samples in 2019 and 2020. The northwestern and Dagestan populations differed slightly from them in 2021 and 2022. In 2022, the Krasnodar and Kalmyk populations were divided into separate groups, which differed from each other and from the main group. Long-term results of virulence analysis indicate a high dynamic of the structure of *Pst* populations in Russia. All North Caucasian isolates and 23 Northwestern isolates were used in the SSR analysis. Six loci (RYN3, RYN9, RYN12, WU6, RJO21, RJO24) were monomorphic. Three polymorphic alleles were identified in the RYN13 and RJO27 loci and two in the remaining studied ones. Significant deviations from the Hardy-Weinberg equilibrium are noted for most loci. The observed heterozygosity exceeded the

expected one, which indicates an excess of heterozygotes and the clonal origin of the population. The studied collection of isolates was represented by 20 multilocus genotypes (MGs) (Dagestan and Northwestern – 11 each, Krasnodar – 3, Kalmyk – 1). Common genotypes were detected in Dagestan, Krasnodar and Northwestern populations (MG_1); Dagestan, Kalmyk and Northwestern (MG_2); Dagestan and Krasnodar (MG_3, MG_4). The genetic distances between MGs were estimated. In the multidimensional diagram, they are divided into 4 groups. The main group included 80% of MGs. One Dagestan MG, two Northwestern MG and MG_3 common for Dagestan and Krasnodar collections, significantly differentiated from the main group and among themselves. According to the *Fst* index, most regional *Pst* collections were moderately differentiated among themselves, with the exception of Dagestan and Kalmyk, which is consistent with the virulence analysis. According to the Mantel test, a moderate correlation was found between the results of virulence analysis and SSR ($r = 0.6$). This indicates that both analyses can be used in assessing the genetic polymorphism of *Pst*. The high variability of Russian populations based on virulence and microsatellite loci determines the need for annual monitoring of regional *Pst* populations in Russia.

Keywords: population, SSR markers, *Triticum aestivum*, yellow rust, *Yr* genes