ISSN 2686-8482

2024·10·3

Письма в ВАВИЛОВСКИЙ ЖУРНАЛ ГЕНЕТИКИ И СЕЛЕКЦИИ

Letters to Vavilov Journal of Genetics and Breeding

Генетика растений • Селекция растений • Методы исследования

2024
СЕНТЯБРЬ
Том 10 №3

ПИСЬМА В ВАВИЛОВСКИЙ ЖУРНАЛ ГЕНЕТИКИ И СЕЛЕКЦИИ

PISMAVAVILOV@BIONET.NSC.RU

2024 • 10 • 3 • Сентябрь ISSN 2686-8482

Сетевое издание

Письма в ВАВИЛОВСКИЙ ЖУРНАЛ ГЕНЕТИКИ И СЕЛЕКЦИИ

Основано в 2015 году
Периодичность четыре выпуска в год
DOI 10.18699/letvjgb-2024-10-15

Учредитель

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН), Новосибирск, Россия

Главный редактор

А.В. Кочетов – академик РАН, д-р биол. наук (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)

Заместители главного редактора

Н.П. Гончаров – академик РАН, д-р биол. наук (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)
Е.А. Салина – д-р биол. наук, профессор (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)

Ответственный секретарь

О.Ю. Шоева – канд. биол. наук (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)

Редакционная коллегия

О.С. Афанасенко – академик РАН, д-р биол. наук, профессор (Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия)
О.В. Ваулин – канд. биол. наук (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)
М.А. Вишнякова – д-р биол. наук, профессор (Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия)
Т.А. Гавриленко – д-р биол. наук, профессор (Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия)
Ю.Э. Гербек – канд. биол. наук (Еврейский университет в Иерусалиме, Реховот, Израиль)
И.М. Горобей – д-р с.-х. наук, профессор РАН (СО РАН, Новосибирск, Россия)
Е.И. Гультяева – д-р биол. наук (Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия)
Н.И. Дубовец – чл.-кор. НАН Беларуси, д-р биол. наук, доцент (Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь)
И.К. Захаров – д-р биол. наук, профессор (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)
К.В. Крутовский – канд. биол. наук, профессор (Гёттингенский университет им. Георга-Августа, Гёттинген, Германия)
А.М. Кудрявцев – чл.-кор. РАН, д-р биол. наук (Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия)
С.А. Лашин – канд. биол. наук (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)
А.Ю. Летягин – д-р мед. наук, профессор (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)
П.Н. Мальчиков – д-р с.-х. наук (Самарский НИИ сельского хозяйства им. Н.М. Тулайкова, пос. Безенчук, Россия)
Е.А. Орлова – канд. с.-х. наук (СибНИИРС – филиал ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)
А.С. Пилипенко – канд. биол. наук (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)
Ю.И. Рагино – чл.-кор. РАН, д-р мед. наук, профессор (НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)
И.Д. Рашаль – академик АН Латвии, д-р биол. наук, профессор (Институт биологии Латвийского университета, Саласпилс, Латвия)
Р.Р. Садоян – д-р биол. наук, профессор (Армянский государственный педагогический университет им. Х. Абовяна, Ереван, Армения)
А.А. Соловьев – д-р биол. наук, профессор РАН, профессор (Всероссийский центр карантина растений, Москва, Россия)
Н.А. Сурин – академик РАН, д-р с.-х. наук, профессор (Федеральный исследовательский центр КНЦ СО РАН – обособленное подразделение Красноярский НИИ сельского хозяйства, Красноярск, Россия)
В.А. Трифонов – д-р биол. наук, профессор (Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия)
В.С. Фишман – канд. биол. наук (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)
С.В. Шеховцов – канд. биол. наук (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)

2024 • 10 • 3 • September ISSN 2686-8482

Online edition

Letters to VAVILOV JOURNAL OF GENETICS AND BREEDING

Founded in 2015
Published four issues per year
DOI 10.18699/letvjgb-2024-10-15

Founder
Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (ICG SB RAS), Novosibirsk, Russia

Editor-in-Chief
A.V. Kochetov – Full Member of the Russian Academy of Sciences, Dr. Sci. (Biology) (ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia)

Deputy Editors-in-Chief
N.P. Goncharov – Full Member of the Russian Academy of Sciences, Dr. Sci. (Biology) (ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia)
E.A. Salina – Professor, Dr. Sci. (Biology) (ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia)

Executive Secretary
O.Yu. Shoeva – Cand. Sci. (Biology) (ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia)

Editorial board
O.S. Afanasenko – Full Member of the RAS, Professor, Dr. Sci. (Biology) (All-Russia Research Institute for Plant Protection, St. Petersburg, Russia)
N.I. Dubovets – Corr. Member of the NAS of Belarus, Associate Professor, Dr. Sci. (Biology) (Institute of Genetics and Cytology, NASB, Minsk, Belarus)
V.S. Fishman – Cand. Sci. (Biology) (ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia)
T.A. Gavrilenko – Professor, Dr. Sci. (Biology) (N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St. Petersburg, Russia)
I.M. Gorobei – Dr. Sci. (Biology) (Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia)
E.I. Gultyaeva – Dr. Sci. (Biology) (All-Russia Research Institute for Plant Protection, Saint Petersburg, Pushkin, Russia)
Yu.E. Herbeck – Cand. Sci. (Biology) (The Hebrew University of Jerusalem, Rehovot, Israel)
K.V. Krutovsky – Professor, Cand. Sci. (Biology) (Georg-August University of Göttingen, Göttingen, Germany)
A.M. Kudryavtsev – Corr. Member of the RAS, Dr. Sci. (Biology) (Vavilov Institute of General Genetics, RAS, Moscow, Russia)
S.A. Lashin – Cand. Sci. (Biology) (ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia)
A.Y. Letyagin – Professor, Dr. Sci. (Medicine) (ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia)
P.N. Malchikov – Dr. Sci. (Agricul.) (Tulaikov Research Institute of Agriculture, Russian Agricultural Academy, Bezenchuk, Samara oblast, Russia)
E.A. Orlova – Cand. Sci. (Agricul.) (Siberian Research Institute of Plant Production and Breeding – Branch of the ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia)
A.S. Pilipenko – Cand. Sci. (Biology) (ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia)
Yu.I. Ragino – Corr. Member of the RAS, Professor, Dr. Sci. (Medicine) (Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia)
I.D. Rashal – Full Member of the LAS, Professor, Dr. Sci. (Biology) (University of Latvia, Salaspils, Latvia)
R.R. Sadoyan – Professor, Dr. Sci. (Biology), Dean of the Faculty of Biology, Chemistry and Geography (Kh. Abovyan Armenian State Pedagogical University, Yerevan, Armenia)
S.V. Shekhovtsov – Cand. Sci. (Biology), Head of the Genogeography Sector of the Palearctic (Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia)
A.A. Soloviev – Professor, Dr. Sci. (Biology), Deputy Director (All-Russian Plant Quarantine Center, Moscow, Russia)
N.A. Surin – Full Member of the Russian Academy of Sciences, Dr. Sci. (Agricul.), Professor, Head of Scientific Direction
V.A. Trifonov – Professor, Dr. Sci. (Biology) (Institute of Molecular and Cellular Biology, SB RAS, Novosibirsk, Russia)
O.V. Vaulin – Cand. Sci. (Biology) (ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia)
M.A. Vishnyakova – Professor, Dr. Sci. (Biology) (N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St. Petersburg, Russia)
I.K. Zakharov – Professor, Dr. Sci. (Biology) (ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia)

Письма в ВАВИЛОВСКИЙ ЖУРНАЛ ГЕНЕТИКИ И СЕЛЕКЦИИ
Letters to Vavilov Journal of Genetics and Breeding
2024 • 10 • 3 • 139

СОДЕРЖАНИЕ • 2024 • 10 • 3

Генетика растений

141 Оригинальное исследование
ДНК-идентификация сортов и видов козлятника (*Galega*) с применением SRAP-маркеров и рестрикционного анализа спейсера *trnH–psbA*
И.А. Клименко, А.А. Антонов, А.О. Шамустакимова, В.Н. Золотарев

151 Оригинальное исследование
Идентификация *Sr* генов возрастной устойчивости в отечественных сортах мягкой пшеницы методом молекулярно-генетического маркирования
Е.С. Сколотнева, Ю.В. Лаприна, М.И. Киселева, В.Н. Кельбин, Т.М. Коломиец

Селекция растений

158 Оригинальное исследование
Изучение адаптивных и хозяйственно ценных признаков у нового сорта яровой мягкой пшеницы Сигма 5, созданного на основе дигаплоидной линии
И.А. Белан, Л.П. Россеева, Н.П. Блохина, Я.В. Мухина, Ю.П. Григорьев, И.В. Пахотина, Л.В. Мешкова, А.А. Гайдар, Н.В. Трубачеева, В.К. Шумный, Л.А. Першина

166 Оригинальное исследование
Динамика развития основных грибных болезней твердой пшеницы в условиях южной лесостепи Омской области
М.Г. Евдокимов, Л.В. Мешкова, В.С. Юсов

Методы исследования

177 Оригинальное исследование
Сравнение наборов для измерения концентрации ДНК методом флюоресценции на нижней границе диапазона измерений
П.С. Орлов, О.П. Хрипко, Т.С. Кокорина, М.И. Воевода

© Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», 2024
© Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции, 2024

Letters to VAVILOV JOURNAL OF GENETICS AND BREEDING
2024 • 10 • 3 • 140

CONTENTS • 2024 • 10 • 3

Plant genetics

141 Original article
DNA-identification of Goat's rue (*Galega*) varieties and species using SRAP markers and restriction analysis of *trnH–psbA* spacer
I.A. Klimenko, A.A. Antonov, A.O. Shamustakimova, V.N. Zolotarev

151 Original article
Identification of adult resistance *Sr* genes in domestic common wheat varieties using molecular markers
E.S. Skolotneva, Yu.V. Laprina, M.I. Kiseleva, V.N. Kelbin, T.M. Kolomiets

Plant breeding

158 Original article
Study of adaptive and agronomically important traits in the new spring bread wheat variety Sigma 5, developed on the basis of the double haploid line
I.A. Belan, L.P. Rosseeva, N.P. Blokhina, Y.V. Mukhina, Y.P. Grigoriev, I. V. Pakhotina, L.V. Meshkova, A.A. Gaydar, N.V. Trubacheeva, V.K. Shumny, L.A. Pershina

166 Original article
Dynamics of development of the main fungal diseases of durum wheat in the conditions of the southern forest-steppe of the Omsk region
M.G. Evdokimov, L.V. Meshkova, V.S. Yusov

Research methods

177 Original article
Comparison of fluorescence DNA quantification kits at the lower limit of the measurement range
P.S. Orlov, O.P. Khripko, T.S. Kokorina, M.I. Voevoda

© Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 2024
© Letters to Vavilov Journal of Genetics and Breeding, 2024

Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции
Letters to Vavilov Journal of Genetics and Breeding
2024 • 10 • 3 • 141-150

pismavavilov.ru
DOI 10.18699/letvjgb-2024-10-16

Оригинальное исследование

ДНК-идентификация сортов и видов козлятника (*Galega*) с применением SRAP-маркеров и рестрикционного анализа спейсера *trnH–psbA*

И.А. Клименко ✉, А.А. Антонов, А.О. Шамустакимова, В.Н. Золотарев

Аннотация: Козлятник широко используется в качестве лекарственного растения и на корм скоту, в биологическом земледелии и для получения биогаза. К настоящему времени в России создано 18 высокопродуктивных сортов козлятника восточного (*Galega orientalis* Lam.). Активная селекционная работа продолжается, однако отсутствуют надежные методы определения сортовой и видовой принадлежности. Цель наших исследований состояла в изучении потенциала SRAP-маркеров и метода рестрикционного анализа спейсера *trnH–psbA* для ДНК-идентификации сортов и видов рода *Galega*. Исследования по оценке меж- и внутрисортового генетического полиморфизма проведены на выборке из российских сортов козлятника восточного, включенных в Госреестр селекционных достижений Российской Федерации. С использованием восьми комбинаций SRAP-праймеров получены 283 фрагмента амплифицированной ДНК, из которых 105 (37.1 %) оказались полиморфными. Эффективное число аллелей в среднем равнялось 1.37, показатель информационного содержания (PIC) – 0.787; средние значения индексов генетического разнообразия по Нею (He) и Шеннона (I) составили соответственно 0.25 и 0.41. Кластеризация образцов методом главных координат разделила их на три группы в зависимости от происхождения и хозяйственного назначения при возделывании в различных регионах. Для сортов Вест и Юбиляр, выделившихся уникальными, сортоспецифичными ампликонами, разработаны ДНК-паспорта. При амплификации с использованием практически всех комбинаций SRAP-праймеров выявлены существенные отличия в ДНК-профиле сорта Еля-Ты в сравнении с другими изучаемыми образцами. Для уточнения видовой принадлежности данного сорта был применен метод рестрикционного анализа ДНК-баркода *trnH–psbA*. Результаты исследования показали, что SRAP-маркеры можно успешно использовать для оценки генетического разнообразия и сортовой ДНК-идентификации козлятника восточного. Метод рестрикционного анализа спейсеров хлоропластной ДНК является эффективным подходом для различения видов в составе рода *Galega*.

Ключевые слова: козлятник восточный; *Galega orientalis* Lam.; генетическое разнообразие; SRAP-маркеры; ДНК-полиморфизм; генетический паспорт; ДНК-баркодирование; рестрикционный анализ.
Для цитирования: Клименко И.А., Антонов А.А., Шамустакимова А.О., Золотарев В.Н. ДНК-идентификация сортов и видов козлятника (*Galega*) с применением SRAP-маркеров и рестрикционного анализа спейсера *trnH–psbA*. *Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2024;10(3):141-150. DOI 10.18699/letvjgb-2024-10-16
Финансирование: Финансирование исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания по теме FGGW-2022-0007.

Original article

DNA-identification of Goat's rue (*Galega*) varieties and species using SRAP markers and restriction analysis of *trnH–psbA* spacer

I.A. Klimenko ✉, A.A. Antonov, A.O. Shamustakimova, V.N. Zolotarev

Abstract: Goat's rue is well known for its medical and fodder value, as a crop for soil biologization and biofuel production. To present moment 18 varieties of *Galega orientalis* Lam., that characterized by high productivity, have been developed, however there are no reliable methods of varieties and species identification. The objectives of this study were to assess the potential of SRAP markers and method of *trnH–psbA* spacer restriction analysis for DNA-identification the varieties and species in genera *Galega*. Inter-varietal and intra-varietal DNA polymorphism was estimated for Russian fodder galega varieties from State Plant Cultivar Register of Russia. A total 283 bands were amplified by eight SRAP-primer combinations, of which 105 (37.1 %) were polymorphic. The average effective number of alleles evaluated as 1.37; polymorphic information content (PIC) – 0.787; average Nei's gene diversity (He) and Shannon's information

Федеральный научный центр кормопроизводства и агроэкологии им. В.Р. Вильямса, Лобня, Московская область, Россия
Federal Williams Research Center of Forage Production & Agroecology, Lobnya, Moscow region, Russia
✉ iaklimenko@mail.ru
© Клименко И.А., Антонов А.А., Шамустакимова А.О., Золотарев В.Н., 2024

Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0

index (I) were 0.25 and 0.41 accordingly. Clustering of accessions by method of principal coordinates analysis (PCoA analysis) revealed three groups in dependence of origin and destination at cultivation in the different regions. DNA certificates were developed for varieties Vest and Yubilyar, which had specific amplicons with unique sizes in DNA spectrum. The genetic divergence of the variety Elya-Ti in comparison with other varieties has been demonstrated. The method of restriction analysis of DNA-barcode *trnH–psbA* was employed to specify this variety species affiliation. The results of the research showed the effectiveness of SRAP markers for genetic diversity evaluation and varietal DNA identification of fodder galega. The method of chloroplast DNA spacer restriction analysis is efficient approach for species discrimination in genera *Galega*.
Key words: *Galega orientalis* Lam.; genetic diversity; SRAP markers; DNA polymorphism; genetic certificate; DNA-barcoding; restriction analysis.
For citation: Klimenko I.A., Antonov A.A., Shamustakimova A.O., Zolotarev V.N. DNA-identification of Goat's rue (*Galega*) varieties and species using SRAP markers and restriction analysis of *trnH–psbA* spacer. *Pisma v Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Letters to Vavilov Journal of Genetics and Breeding.* 2024;10(3):141-150. DOI 10.18699/letvjgb-2024-10-16 (in Russian)
Funding: This work was supported by State Budgetary Project FGGW-2022-0007.

Введение

Козлятник относится к семейству Бобовые (Fabaceae Lindl.), роду Галега (*Galega* Tourn. ex L.), который состоит из восьми видов. Наиболее распространены два из них: козлятник восточный (*Galega orientalis* Lam.) и козлятник лекарственный (*Galega officinalis* L.).

Козлятник восточный – многолетнее травянистое растение, имеющее прямые стебли высотой до 150 см, с соцветием в форме многоцветковой кисти. Характеризуется высоким содержанием протеина при сниженной концентрации антипитательных веществ, поэтому представляет ценность в качестве кормовой культуры. На корм используют зеленую массу и семена. Козлятник восточный может успешно применяться при рекультивации земель и в адаптивно-ландшафтных системах земледелия: он улучшает структуру почвы, предохраняет ее от эрозии и насыщает биологическим азотом; в странах ЕС выращивается для получения биогаза (Трузина, 2012; Вагунин и др., 2019; Золотарев, Коровина, 2021). Культура – перекрестноопыляемая, с диплоидным набором хромосом (2*n* = 16).

Селекционная работа с козлятником восточным началась в нашей стране в Москве, Московской области и Пермском крае сразу после Гражданской войны. К 50-м годам прошлого столетия интродукцией и улучшением хозяйственно ценных признаков и свойств занимались в Белоруссии, на Украине и в республиках Прибалтики бывшего СССР. Однако широкого внедрения в севообороты передовых хозяйств культура не получила вследствие узкого набора сортов и дефицита семян (Зубарев и др., 2016). Первый отечественный сорт Гале, выведенный селекционерами ВНИИ кормов совместно с Эстонским НИИ земледелия и мелиорации, зарегистрирован в 1988 г. К настоящему времени в Госреестр РФ включены 18 высокопродуктивных сортов козлятника восточного. Ведущими организациями-оригинаторами являются: ФГБНУ «Федеральный научный центр кормопроизводства и агроэкологии имени В.Р. Вильямса» (ФНЦ «ВИК им. В.Р. Вильямса») – сорта Вест, Гале; ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР)» – Надежда, Заполярный; ФГБНУ «Федеральный научный центр лубяных культур» (ФНЦ лубяных культур) – сорта Магистр, Юбиляр, Кривич и Талисман.

Для рационального использования и сохранения генетического разнообразия, ускорения процессов селекции и решения вопросов по защите прав интеллектуальной собственности требуются надежные методы определения видовой и сортовой принадлежности. В последние три десятилетия для этих целей применяются молекулярные ДНК-маркеры на основе ПЦР-технологии. В отличие от традиционных фенотипических маркеров они стабильны, многочисленны, высокополиморфны, не зависят от условий окружающей среды. Однако данных по изучению межвидового и межсортового полиморфизма козлятника восточного с использованием генетических маркеров на сегодняшний день мало. Так, в ВИР проводились исследования по сортовой идентификации культуры с помощью белковых маркеров (Егги, Гаврилюк, 2015). Ученые из Китая в совместной работе со специалистами ВИР оценили генетическое разнообразие козлятника лекарственного (*Galega officinalis*) на основе ISSR- и SRAP-маркеров (Wang et al., 2012). В ФНЦ «ВИК им. В.Р. Вильямса» использовали ДНК-маркеры двух типов (RAPD и SRAP) для молекулярно-генетической характеристики сортов и перспективных селекционных образцов козлятника восточного (Клименко и др., 2016; Zolotarev et al., 2022).

В настоящее время в популяционной генетике и для ассоциативного анализа хозяйственно ценных признаков широко применяются SRAP-маркеры (sequence-related amplified polymorphism). Это относительно новый метод ДНК-типирования, основанный на амплификации интрон-экзонных областей (Li, Quiros, 2001). Изначально разработан для изучения генома представителей рода *Brassica*, но оказался высокоэффективным на разных культурах (Castonguay et al., 2010; Comlekcioglu et al., 2010; Alghamdi et al., 2012; Rhouma et al., 2017).

Цель наших исследований состояла в изучении потенциала SRAP-маркеров и метода рестрикционного анализа спейсера *trnH–psbA* для ДНК-идентификации сортов и видов рода *Galega*.

Материалы и методы

Растительный материал. Семена сортов козлятника восточного Вест, Кривич, Юбиляр, Еля-Ты, Горноалтайский 87, Ялгинский, Талисман, Тюменский были получены из ЦКП «Биологические коллекции кормовых растений» (ФНЦ «ВИК им. В.Р. Вильямса»), ВИР им. Н.И. Вавилова, а также любезно предоставлены селекционерами ФНЦ лубяных культур (г. Тверь).

Выделение геномной ДНК. Геномную ДНК для оценки межсортового генетического полиморфизма выделяли из суммарных образцов, включающих 30 семидневных проростков от каждого сорта, с помощью модифицированного SDS-метода (Клименко и др., 2021). Для определения однородности сортов – кандидатов на паспортизацию – провели анализ внутрисортовой генетической изменчивости с препаратами ДНК, выделенными из 10 индивидуальных генотипов каждого исследуемого образца. Качество и концентрацию полученных ДНК-проб определяли путем электрофореза в агарозном геле (агароза типа LE2, Amresco, США) и на спектрофотометре NanoNabi, Digital LtD (Южная Корея).

ПЦР-анализ с использованием SRAP-маркеров. Для выявления ДНК-полиморфизма использовали набор из восьми комбинаций SRAP-маркеров (Li, Quiros, 2001; Wang et al., 2012). Реакционная смесь для ПЦР объемом 20 мкл содержала: 10× Taq Turbo buffer – 3 мкл, 50 dNTP mix – 0.5 мкл, 5U Taq-ДНК полимеразу – 0.4 мкл, 1 мкл ДНК (30 нг/мкл), а также по 1 мкл каждого праймера (количественный состав компонентов указан в расчете на одну реакцию). Амплификация в термоциклере Bio-Rad C-1000 (США) проходила в соответствии с программой, предложенной авторами-разработчиками маркеров: начальная денатурация 5 мин при 94 °C; следующие 5 циклов: 1 мин – 94 °C, 1 мин – 35 °C, 2 мин при 72 °C; затем 35 циклов с чередованием температурных и временных параметров: 1 мин – 94 °C, 1 мин – 50 °C, 2 мин – 72 °C; финальная элонгация при 72 °C в течение 10 мин. Детектировали результаты ПЦР с помощью электрофореза в 1.6 % агарозном геле и определяли их размеры в сравнении с молекулярным маркером-стандартом 100 bp DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific, США). Верификация размеров сортоспецифичных ампликонов проведена с помощью системы капиллярного электрофореза QSep1-Plus (BiOptic, Тайвань). Реактивы и праймеры для ПЦР синтезированы в ООО «Евроген-Лаб» (Россия).

ДНК-баркодирование с последующим рестрикционным анализом. Исследование по видовой идентификации образцов козлятника выполнено на основе метода ДНК-баркодирования (Kress et al., 2015; Kress, 2017). Использовали межгенные спейсеры хлоропластной ДНК *trnH–psbA* (Loera-Sánchez et al., 2020).

Состав реакционной смеси для ПЦР по количеству используемых компонентов был аналогичен составу при анализе со SRAP-маркерами. Программа амплификации включала: начальную денатурацию в течение 5 мин при 94 °C и последующие 50 циклов с меняющимся температурным и временным режимом (40 с при 94 °C, 1 мин при 54 °C, 40 с при 72 °C). Финальная элонгация продолжительностью 10 мин проходила при температуре 72 °C.

Анализ хлоропластных геномов для отбора маркеров и ферментов рестрикции проведен на основе информации, размещенной в базе данных NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov) и на сайте NEBcutter (www.nc2.neb.com).

Для расщепления продуктов ПЦР использовали шесть эндонуклеаз рестрикции с сайтами узнавания от 4 до 5 нуклеотидов: MboI, MseI, RsaI, TaqI, DdeI, HinfI. С этой целью 5 мкл продукта смешивали с 12 мкл воды, 2 мкл универсального буфера SE ROSE, 1 мкл фермента и инкубировали в течение 1 ч при рабочей температуре каждой рестриктазы. Фрагменты рестрикции детектировали в 1.6 % агарозном геле, в качестве маркера молекулярного веса был взят Step 100 Long 100 bp («Биолабмикс», Россия). Реактивы для CAPS-анализа и ферменты рестрикции поставлены компанией «СибЭнзим» (Россия).

Статистическая обработка. Размеры продуктов амплификации определяли в программе Image Lab (приложение к системе Gel Doc™ XR+, Bio-Rad, США), сопоставляя с маркером-стандартом. На основании полученных данных формировали бинарные матрицы с использованием программы PopGene (Yeh et al., 1997) и вычисляли показатели генетического разнообразия: эффективное число аллелей, индекс Шеннона, генетические дистанции. Эффективное число аллелей служит наиболее распространенной мерой генетической изменчивости в популяции и представляет собой такое число аллелей, при одинаковой частоте которых ожидаемая гетерозиготность будет равна фактической. Генетическая дистанция впервые была определена M. Nei как разница между двумя объектами, описанная аллельными вариациями (Nei, Li, 1979). В популяционной генетике единицей генетического расстояния является число нуклеотидных замен или кодонов на один локус. Индекс Шеннона отражает степень полиморфизма полос ДНК в электрофоретическом профиле. Он позволяет измерять внутрипопуляционную изменчивость (Чесноков, Косолапов, 2016).

Показатели информативности праймеров (PIC) рассчитывали с помощью специальной формулы:

$$PIC_j = 1 - \sum_{i=1}^{n} P_i^2,$$

где i – i-й аллель j-го маркера; n – число аллелей j-го маркера; P – частота аллелей.

Определяли частоту встречаемости каждого аллеля (для конкретной комбинации праймеров), а затем находили сумму квадратов частот встречаемости всех аллелей и вычитали полученное число из единицы (Чесноков, Артемьева, 2015).

Анализ генетических взаимосвязей с помощью метода главных координат (PCoA-анализ) осуществляли в надстройке MS Exel GenAlex 6.2 (Peakall, Smouse, 2006).

Результаты и обсуждение

ПЦР-анализ коллекции с использованием SRAP-маркеров

Геномная ДНК была выделена с помощью модифицированного SDS-метода (Клименко и др., 2021), который оказался более эффективным и менее затратным для «балк-стратегии» (Gilbert et al., 1999) по сравнению с традиционными подходами, в том числе основанными на применении коммерческих наборов. Результаты электрофореза и спектрофотометрии показали высокую концентрацию ДНК (более 80 нг/мкл в среднем) и степень чистоты образцов от примесей белковой и полисахаридной фракций. Для ПЦР концентрация нативных растворов была доведена до одинаковых значений – 30 нг/мкл.

В результате генотипирования с использованием восьми комбинаций SRAP-маркеров, которые в работе Z. Wang с коллегами (2012) успешно применялись для оценки гене-

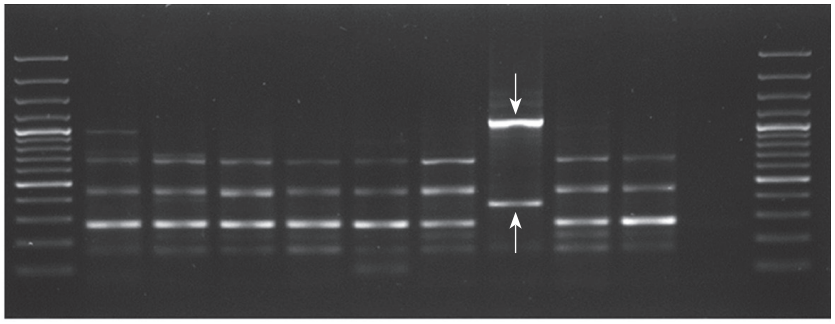


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов амплификации ДНК образцов козлятника восточного с комбинацией SRAP-праймеров ME3-EM4.

1 – Юбиляр, 2 – Талисман, 3 – Кривич, 4 – Гале, 5 – Вест, 6 – Ялгинский, 7 – Еля-Ты, 8 – Тюменский, 9 – Горноалтайский 87, K – контроль (вода), M – маркер-стандарт 100 bp DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific, США)

Fig. 1. The electrophoregram of genomic DNA amplification in fodder galega with SRAP-primer combination ME3-EM4.

1 – Yubilyar, 2 – Talisman, 3 – Krivich, 4 – Gale, 5 – Vest, 6 – Yalginskiy, 7 – Elya-Ti, 8 – Tyumenskiy, 9 – Gornoaltayskiy 87, K – control, M – 100 bp DNA Ladder molecular weight marker (Thermo Fisher Scientific, USA)

тического разнообразия образцов козлятника лекарственного (*G. officinalis*), мы получили отчетливую и воспроизводимую амплификацию со всеми образцами изучаемой выборки (рис. 1). Из выявленных 283 продуктов ПЦР размером от 158 до 1651 пары нуклеотидов 105 оказались полиморфными, что составило 37.1 %. Для козлятника лекарственного этот показатель был равен 67.1 %, что, вероятно, обусловлено более высоким уровнем генетических вариаций у дикорастущих образцов козлятника в сравнении с культивируемыми сортами, имеющими чаще всего общие источники исходного материала, сходство в схемах и направлениях селекции.

При расчете показателей генетического разнообразия определено, что эффективное число аллелей в среднем составило 1.37 и варьировало от 1.25 (ME3-EM2 и ME3-EM4) до 1.58 (ME1-EM5). Индекс разнообразия Нея менялся в диапазоне от 0.20 (ME3-EM2 и ME3-EM4) до 0.34 (ME1-EM5). Средняя величина индекса Шеннона равнялась 0.41; наименьшая (0.35) – с маркерами ME3-EM2 и ME3-EM4, наибольшая (0.51) – с ME1-EM5 (табл. 1). Значения этих показателей оказались сопоставимыми с выявленными при использовании ISSR-маркеров: 0.43 – для индекса Шеннона, 0.29 – для индекса разнообразия по Нею в среднем (Wang et al., 2012). При этом показатель информационного содержания (PIC), свидетельствующий об эффективности применяемых маркеров, был существенно выше в нашей работе (0.787) в сравнении со средними значениями, установленными при ISSR- (0.378) и SRAP-анализе (0.422) (Wang et al., 2012). Согласно полученным данным, наиболее информативной для оценки ДНК-полиморфизма козлятника восточного можно считать

Таблица 1. Показатели генетического разнообразия и эффективности SRAP-маркеров при анализе образцов козлятника восточного

Table 1. Parameters of the genetic diversity and effectiveness of SRAP markers at analysis of fodder galega

Комбинация маркеров	Среднее число ампликонов на сорт	Степень полиморфизма, %	Эффективное число аллелей (Ne)	Индекс разнообразия по Нею (He)	Индекс Шеннона (I)	Индекс информативности праймеров (PIC)
ME1-EM1	4.8	44.2	1.40	0.27	0.44	0.850
ME1-EM2	3.7	27.3	1.34	0.24	0.40	0.808
ME1-EM4	5.3	33.3	1.29	0.22	0.38	0.863
ME1-EM5	2.4	63.6	1.58	0.34	0.51	0.760
ME3-EM1	6.4	43.1	1.39	0.26	0.41	0.876
ME3-EM2	2.0	11.1	1.25	0.20	0.35	0.599
ME3-EM4	2.9	7.70	1.25	0.20	0.35	0.713
ME3-EM5	3.9	51.4	1.46	0.27	0.42	0.824
Общее	283	–	–	–	–	–
Среднее	3.93	35.2	1.37	0.25	0.41	0.787

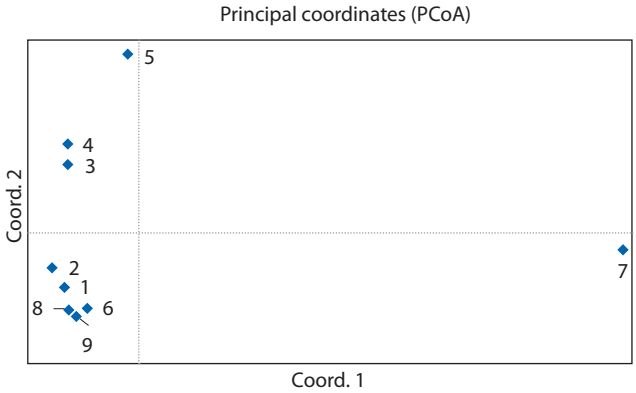


Рис. 2. Результаты PCoA-анализа сортов козлятника восточного на основании генотипирования с использованием SRAP-маркеров.

1 – Юбиляр, 2 – Талисман, 3 – Кривич, 4 – Гале, 5 – Вест, 6 – Ялгинский, 7 – Еля-Ты, 8 – Тюменский, 9 – Горноалтайский 87

Fig. 2. PCoA-analysis of fodder galega varieties based on genotyping using SRAP markers.

1 – Yubilyar, 2 – Talisman, 3 – Krivich, 4 – Gale, 5 – Vest, 6 – Yalginskiy, 7 – Elya-Ti, 8 – Tyumenskiy, 9 – Gornoaltayskiy 87

пару праймеров ME1-EM4 – значение PIC составило 0.863; наименьшее значение этого параметра определено при использовании ME3 и EM2 – 0.599 (см. табл. 1).

Достаточно умеренный уровень межсортового генетического полиморфизма, выявленный при анализе козлятника восточного, не характерен для перекрестноопыляемой культуры, но может быть обусловлен использованием близкородственного исходного материала при селекции в различных учреждениях России.

На основании данных бинарных матриц был проведен PCoA-анализ, с помощью которого представлены генетические взаимосвязи между образцами в графической форме (рис. 2).

Дисперсии первых двух координат составили 54 и 15 % соответственно, суммарно на них приходится большая часть от общей дисперсии. Сорта козлятника восточного разделились на три группы (см. рис. 2). Близкими генетическими дистанциями характеризовались Юбиляр и Талисман, созданные селекционерами Псковского НИИСХ – филиала ФНЦ лубяных культур и предназначенные для выращивания в Северо-Западном регионе, а также Ялгинский, Горноалтайский 87 и Тюменский. Оригинаторами последних трех сортов являются разные организации, однако выведены они по аналогичной селекционной схеме (методом массового отбора из образца, полученного из ВНИИ кормов) (Егги, Гаврилюк, 2015) и по своим биолого-физиологическим свойствам наиболее адаптированы для культивирования в условиях Волго-Вятского и Западно-Сибирского регионов России. В общую группу объединились среднеспелый сорт Кривич (селекция Псковского НИИСХ) и широко распространенный в нашей стране раносозревающий и зимостойкий сорт Гале. Значительно удаленным от других образцов оказался сорт Вест (селекция ФНЦ «ВИК им. В.Р. Вильямса»), выведенный из сортовых популяций Гале методами индивидуального отбора растений с маркерным признаком и оценкой по семенной продуктивности и зимостойкости. В отдельную группу, справа от оси ординат, выделился сорт Еля-Ты (ФГБУН ФИЦ «Коми научный центр Уральского отделения РАН»).

Таблица 2. Сорта козлятника восточного с уникальными по размерам продуктами амплификации

Table 2. Fodder galega varieties with unique in sizes amplification products

Название сорта	Комбинация SRAP-маркеров	Размер уникальных фрагментов амплификации, п. н.
Юбиляр	ME1-EM1	296
	ME1-EM2	539
	ME1-EM5	1010
	ME3-EM5	505, 826
Вест	ME1-EM1	178
	ME3-EM5	390
Талисман	ME1-EM1	352
Еля-Ты	ME1-EM2	286, 371, 533
	ME1-EM4	158, 243, 410, 641, 784, 939, 1250
	ME1-EM5	1133
	ME3-EM1	205, 263
	ME3-EM2	385, 660
	ME3-EM4	362, 1080
	ME3-EM5	329

Анализ внутрисортовой генетической изменчивости для оценки однородности сортов козлятника восточного

На основе результатов SRAP-анализа для всех изучаемых образцов составлены молекулярно-генетические формулы (данные не приводятся). У сортов Юбиляр, Вест, Талисман, Еля-Ты выявлены сортоспецифичные ампликоны, в общей сложности – 26 (3.3 %), которые можно использовать для ДНК-идентификации (табл. 2).

Выделившиеся сорта исследовали по признаку генетической однородности для последующей разработки ДНК-паспортов. С этой целью провели оценку внутрисортового генетического полиморфизма с использованием геномной ДНК десяти индивидуальных, рандомно отобранных генотипов каждого сорта (в стадии 8-дневных проростков) и трех наиболее полиморфных комбинаций SRAP-маркеров: ME1-EM1, ME1-EM2 и ME3-EM5. Примеры электрофореграмм представлены на рис. 3.

Установлено, что при использовании высокополиморфных SRAP-маркеров среднее значение выравненности для исследуемых сортов составило 56.6 % с наибольшим показателем у сорта Вест (63.6 %) и наименьшим – у сорта Юбиляр (53.3 %), который выделялся внутри выборки и более высоким числом генотипов со специфичным ДНК-профилем (в среднем 4.3). Полученные данные позволяют заключить, что по интрон-экзонным областям генома проанализированные сорта козлятника восточного достаточно вариабельны, что объяснимо особенностями репродуктивной системы. На основании результатов верификации размеров сортоспецифичных ДНК-фрагментов методом высо-

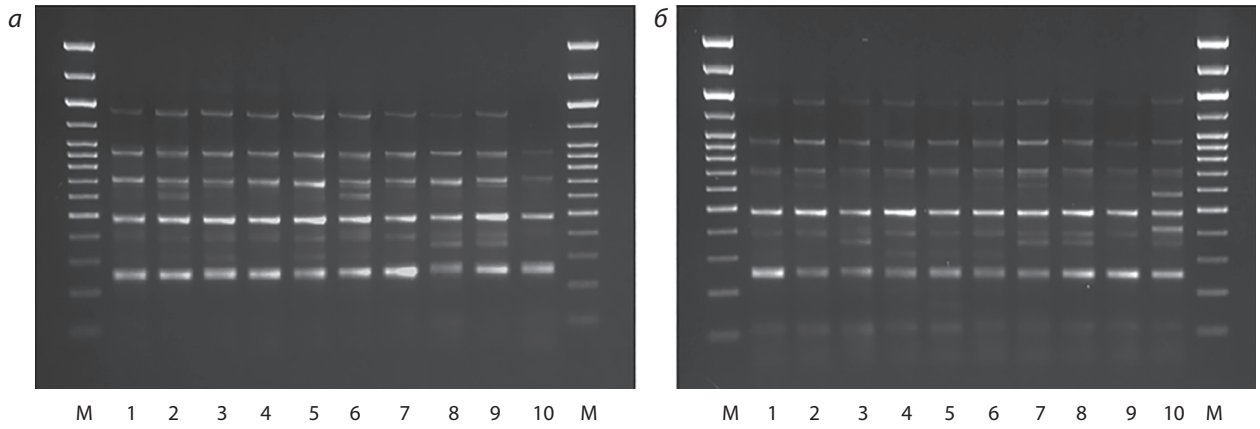


Рис. 3. Электрофореграммы SRAP-анализа по выявлению внутрисортового генетического полиморфизма козлятника восточного с комбинацией маркеров ME1-EM1.

1–10 – образцы ДНК генотипов сорта Юбиляр (*а*) и сорта Вест (*б*). M – маркер-стандарт (Step 100 Long 100 bp, «Биолабмикс», Россия)

Fig. 3. The electrophoregrams of SRAP analysis on revealing of intra-varietal genetic polymorphism in fodder galega with marker combination ME1-EM1.

1–10 – genomic DNA of Yubilyar variety (*a*) and Vest variety (*b*) genotypes. M – molecular weight marker (Step 100 Long 100 bp, Biolabmix, Russia)

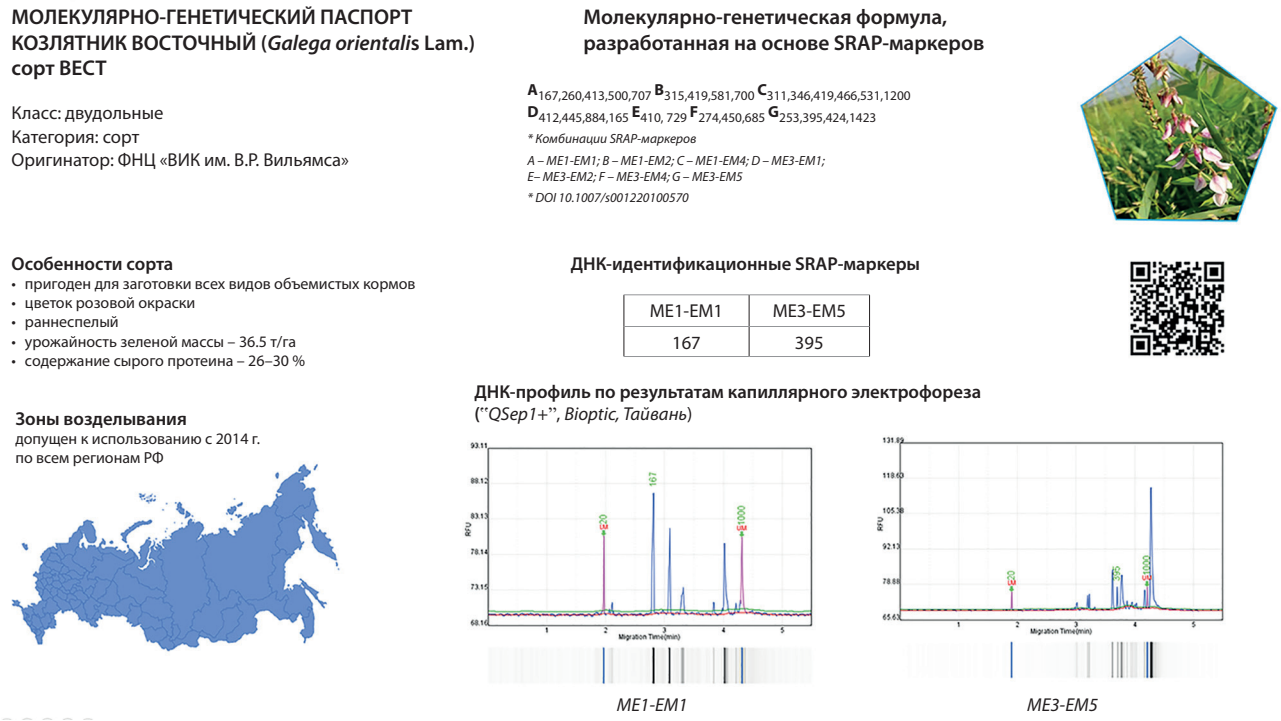


Рис. 4. Образец генетического паспорта козлятника восточного (сорт Вест)

Fig. 4. The sample of genetic certificate for fodder galega (cv. Vest)

коразрешающего капиллярного электрофореза для сортов Вест и Юбиляр были разработаны молекулярно-генетические паспорта (рис. 4).

Рестрикционный анализ ДНК-баркода *trnH–psbA*

При генотипировании с разными комбинациями SRAP-маркеров козлятник восточный сорта Еля-Ты (семена получены из коллекции ВИР им. Н.И. Вавилова) существенно отличался по ДНК-профилю от других сортов и практически не имел общих с ними аллелей (см. рис. 1), поэтому в исследование включили анализ по уточнению видовой принадлежности данного образца. Сравнительную оценку провели с использованием ДНК-проб сортов Талисман, Гале (относящихся к виду козлятник восточный) и трех образцов дикорастущего козлятника лекарственного происхождением из ФГБНУ «Донецкий ботанический сад» (репродукции 2014,

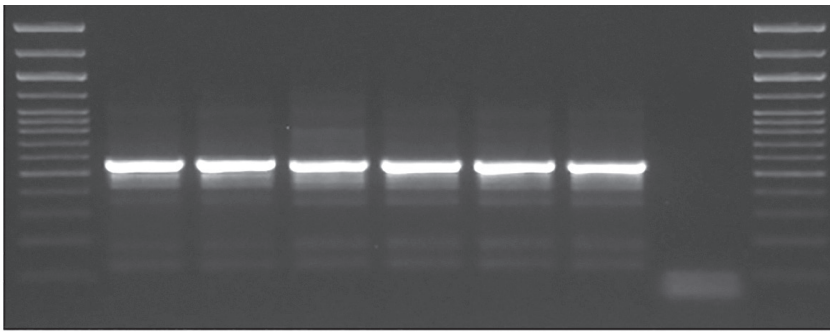


Рис. 5. Электрофореграмма продуктов амплификации образцов ДНК козлятника с маркером *trnH–psbA*.

Козлятник восточный: 1 – Талисман, 2 – Гале; 3 – Еля-Ты; козлятник лекарственный: 4–6 – образцы репродукций 2019, 2014, 2023 гг.; К – контроль (вода); М – маркер молекулярного веса (Step 100 Long 100 bp, «Биолабмикс», Россия)

Fig. 5. The electrophoregram of galega genomic DNA amplification with marker *trnH–psbA*.

Galega orientalis Lam.: 1 – Talisman, 2 – Gale, 3 – Elya-Ti; *G. officinalis*: 4–6 – the samples of different reproductions (2019, 2014, 2023); K – control, M – molecular weight marker (Step 100 Long 100 bp, Biolabmix, Russia)

2019 и 2023 гг.). Для ПЦР использовали межгенный спейсер хлоропластной ДНК:

Праймер	Последовательность праймера (5′ → 3′)	Литературный источник
trnHf_05v2-psbA3_fv2	GCR TGG TGG ATT CAC AAT CC / GTT ATG CAT GAA CGT AAY GCT C	Loera-Sánchez et al., 2020

Эти маркеры предназначены для идентификации родов, видов и семейств растений (Kress, 2017; Alongi et al., 2019; Loera-Sánchez et al., 2020).

Со всеми экспериментальными образцами получены идентичные по размеру ПЦР-продукты (рис. 5). Для выявления скрытого видоспецифичного полиморфизма последовательность *trnH–psbA* была проанализирована в хлоропластном геноме *G. orientalis* из GenBank (NC_069214) на наличие сайтов рестрикции.

После анализа в NEBcutter (www.nc2.neb.com) из 65 ферментов рестрикции мы выбрали шесть с сайтами узнавания от четырех до пяти нуклеотидов: MboI, MseI, RsaI, TaqI, DdeI, HinfI (рис. 6). При анализе *in silico* последовательности *trnH–psbA G. orientalis* с помощью программы UGENE определены ожидаемые размеры продуктов рестрикции с указанным набором ферментов. Для *G. officinalis* (козлятника лекарственного) в базе данных GenBank отсутствуют аннотированные последовательности хлоропластного генома. Обработка ПЦР-продуктов, полученных с маркерами trnHf_05v2 и psbA3_fv2, позволила выявить межвидовой полиморфизм при использовании четырех из шести выбранных рестриктаз: RsaI, MseI, MboI, DdeI. Причем ДНК-профили сорта Еля-Ты и образцов козлятника лекарственного полностью совпадали (рис. 7). Вероятно, в анализируемых участках генома этих образцов присутствуют общие последовательности нуклеотидов, отличающие их от растений, относящихся к виду козлятник восточный. Полученные результаты позволяют предположить принадлежность сорта Еля-Ты к виду козлятник лекарственный.

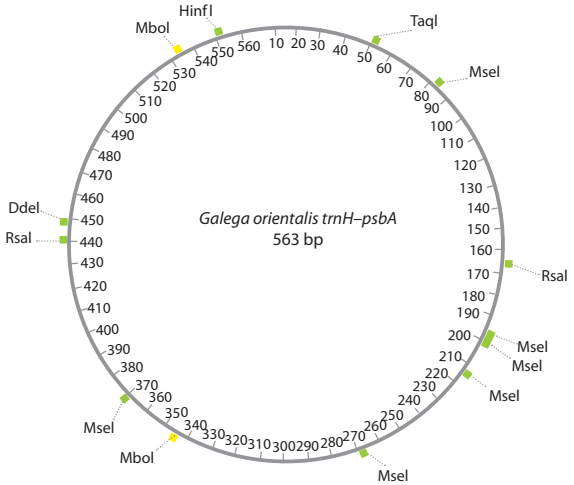


Рис. 6. Круговая диаграмма амплифицируемого ПЦР-фрагмента межгенного спейсера t*rnH–psbA*.

Цветом обозначены сайты рестрикции и рестриктазы, использованные в анализе

Fig. 6. The diagram of PCR fragment of *trnH–psbA* spacer for amplification.

Restriction sites and restriction endonucleases were marked by color

Для проведения дополнительного теста на отличимость по морфологическим характеристикам семена сортов были высажены в сосуды в условиях тепличного комплекса. Сравнительная визуальная оценка 3-месячных растений показала выраженные различия по форме листочков (рис. 8). У растения сорта Еля-Ты они были продолговатыми, линейно-вытянутой, почти ланцетной формы, а у растений сортов Вест и Юбиляр – широкояйцевидные, типичные для вида козлятник восточный. Различия по такому важному морфологическому признаку, как форма листочка, имеющему наследственную природу, также косвенно указывают на иную видовую принадлежность сорта Еля-Ты.

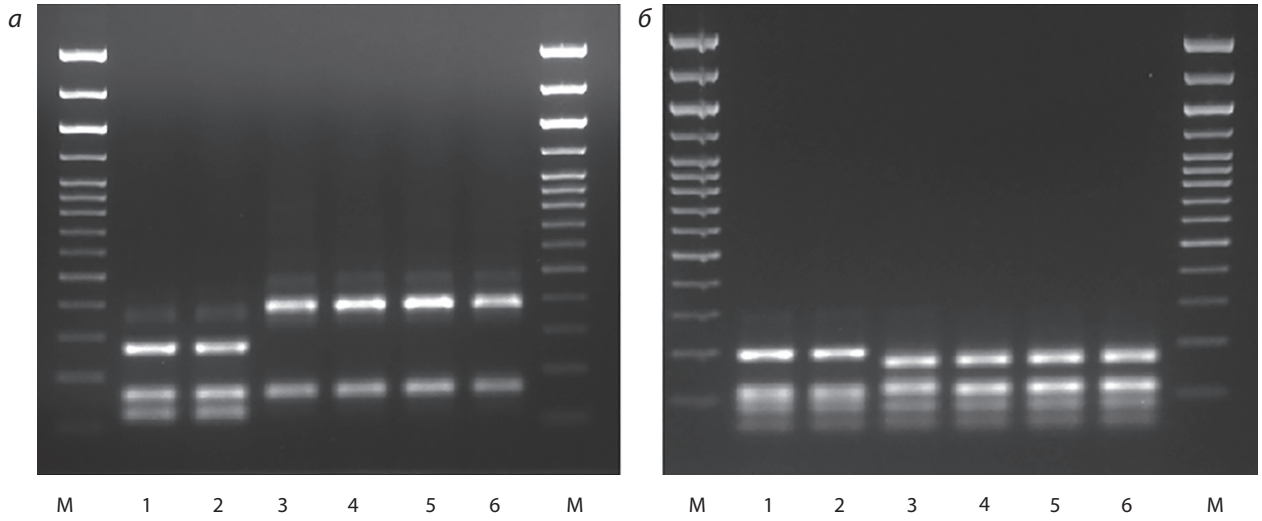


Рис. 7. Электрофореграммы продуктов рестрикции образцов козлятника: а – с рестриктазой RsaI; б – с рестриктазой MseI.

Козлятник восточный: 1 – Талисман, 2 – Гале; 3 – Еля-Ты; козлятник лекарственный: 4–6 – образцы репродукций 2019, 2014, 2023 гг.; M – маркер молекулярного веса (Step 100 Long 100 bp, «Биолабмикс», Россия)

Fig. 7. The electrophoregrams of galega restriction enzyme digests: *a*, with restriction endonuclease RsaI; *b*, with restriction endonuclease MseI.

Galega orientalis Lam.: 1 – Talisman, 2 – Gale, 3 – Elya-Ti; *G. officinalis*: 4–6 – the samples of different reproductions (2019, 2014, 2023); M – molecular weight marker (Step 100 Long 100 bp, Biolabmix, Russia)

Еля-Ты Вест Юбиляр

Рис. 8. Сравнительный тест по видовой идентификации растений козлятника по признаку «форма листочков»

Fig. 8. Comparative test on specie identification of galega plants on leaflets shape

Заключение

По результатам проведенного исследования можно заключить, что SRAP-маркеры пригодны для ДНК-идентификации сортов козлятника восточного. Со всеми испытанными комбинациями праймеров получены выраженные и стабильные продукты амплификации с наличием полиморфных фрагментов. Выделены маркеры, которые можно использовать для различения сортов галеги, включенных в Госреестр Российской Федерации. Так, парные комбинации ME1-EM1, ME1-EM2, ME1-EM5, ME3-EM5 выявляют сортоспецифичные ДНК-фрагменты размерами 296, 539, 1010, 505 и 826 пар нуклеотидов соответственно у сорта Юбиляр. Маркер

ME1-EM1 можно считать ДНК-идентификационным для сорта Талисман, поскольку с ним получен уникальный в коллекции ампликон размером 352 п. н. Сорт Вест выделялся фрагментами амплификации 178 п. н. с комбинацией маркеров ME1-EM1 и 390 п. н. – с ME3-EM5. Несколько сортоспецифичных продуктов разных размеров получено для сорта Еля-Ты со всеми анализируемыми маркерами, кроме комбинации ME1-EM1.

Анализ по выявлению внутрисортового ДНК-полиморфизма показал, что исследуемые сорта козлятника восточного являются средневариабельными: показатель однородности составил в среднем 56.6 %, а количество генотипов с различающимися ДНК-спектрами – 3.5 на сорт.

В соответствии с многомерной диаграммой сходства, построенной на основе бинарных матриц (PCoA-анализ), изучаемые образцы разделились на две основные группы, что отражает близкородственное происхождение большинства сортов, созданных на основе сорта Гале. Наибольшая генетическая дистанция относительно другого материала выявлена для сорта Вест, который может служить перспективной формой при селекции новых сортов. Особым положением, значительно удаленным на диаграмме, характеризовался сорт Еля-Ты (селекция ФИЦ «Коми научный центр Уральского отделения РАН»).

При генотипировании практически со всеми SRAP-маркерами сорт Еля-Ты выделялся в выборке сортов, относящихся к виду козлятник восточный, специфичным ДНК-профилем. В результате рестрикционного анализа межгенного спейсера хлоропластной ДНК *trnH–psbA* выявлено его генетическое сходство с образцами другого биологического вида – козлятник лекарственный, что ставит под вопрос видовую принадлежность сорта Еля-Ты, заявленную оригинатором при его регистрации.

Таким образом, показана эффективность применения SRAP-маркеров и метода рестрикционного анализа межгенного спейсера хлоропластной ДНК *trnH–psbA* для различения сортов и видов козлятника. Полученная информация может быть использована в работах по геномике и филогенетике данной культуры, а также в прикладных целях: для разработки селекционных схем, для ДНК-идентификации образцов и контроля чистоты семенного материала.

Список литературы / References

Вагунин Д.А., Иванова Н.Н., Амбросимова Н.Н. Многолетние травостои на основе новых сортов козлятника восточного и интенсивных видов злаковых трав. *Междунар. науч.-исслед. журн*. 2019;6(84):97-100. DOI 10.23670/IRJ.2019.84.6.021
[Vagunin D.A., Ivanova N.N., Ambrosimova N.N. Long-term plant formation on the basis of new varieties of eastern galega and intensive types of cereal grasses. *Mezhdunarodnyi Nauchno-issledovatel'skii Zhurnal = International Research Journal*. 2019;6(84):97-100. DOI 10.23670/IRJ.2019.84.6.021 (in Russian)]

Егги Э.Э., Гаврилюк И.П. Электрофорез белков семян для сортовой идентификации высокополиморфных культур на примере козлятника восточного (*Galega orientalis* Lam.). *Аграр. Россия*. 2015;11:14-20. DOI 10.30906/1999-5636-2015-11-14-20
[Eggi Eh.Eh., Gavrilyuk I.P. Seed protein electrophoresis for varietal identification of highly polymorphic crops on the example of oriental goatgrass (*Galega orientalis* Lam.). *Agrarnaya Rossiya = Agrarian Russia*. 2015;11:14-20. DOI 10.30906/1999-5636-2015-11-14-20 (in Russian)]

Золотарев В.Н., Коровина В.Л. Сорт козлятника восточного (*Galega orientalis* Lam.) с маркерным признаком. *Адапт. кормопроизводство*. 2021;1:6-14. DOI 10.33814/AFP-2222-5366-2021-1-6-14
[Zolotarev V.N., Korovina V.L. Eastern goat's rue variety (*Galega orientalis* Lam.) with a marker characteristic. *Adaptivnoe Kormoproizvodstvo = Adaptive Fodder Production*. 2021;1:6-14. DOI 10.33814/AFP-2222-5366-2021-1-6-14 (in Russian)]

Зубарев Ю.Н., Фалалеева Л.В., Субботина Я.В., Нечунаев М.А. Козлятник восточный – культура XXI века. *Перм. аграр. вестн*. 2016;4(16):4-9
[Zubarev Yu.N., Falaleeva L.V., Subbotina Ya.V., Nechunaev M.A. Oriental goatgrass – a crop of the XXI century. *Permskii Agrarnyi Vestnik = Perm Agrarian Journal*. 2016;4(16):4-9 (in Russian)]

Клименко И.А., Коровина В.Л., Козлов Н.Н. Использование RAPD-маркеров для идентификации сортообразцов и межвидовых гибридов кормовых культур. *Многофункциональное адапт. кормопроизводство*. 2016;12(60):11-18
[Klimenko I.A., Korovina V.L., Kozlov N.N. Identification of variety-samples and interspecies hybrids of forage crops using RAPD markers. *Mnogofunktsional'noe Adaptivnoe Kormoproizvodstvo = Multifunctional Adaptive Fodder Production*. 2016;12(60):11-18 (in Russian)]

Клименко И.А., Антонов А.А., Душкин В.А., Шамустакимова А.О., Мавлютов Ю.М. Эффективный способ выделения ДНК для ПЦР-анализа из «балк-образцов» проростков. *Адапт. кормопроизводство*. 2021;3:29-48. DOI 10.33814/AFP-2222-5366-2021-3-29-48
[Klimenko I.A., Antonov A.A. Dushkin V.A., Shamustakimova A.O., Mavlyutov Yu.M. Efficient method of DNA isolation from bulking samples of seedlings. *Adaptivnoe Kormoproizvodstvo = Adaptive Fodder Production*. 2021;3:29-48. DOI 10.33814/AFP-2222-5366-2021-3-29-48 (in Russian)]

Трузина Л.А. Эффективность возделывания травостоя козлятника восточного (*Galega orientalis* Lam.) в условиях Центрального района Нечерноземной зоны. *Кормопроизводство*. 2012;6:20-21
[Truzina L.A. Efficiency of cultivating eastern goats rue (*Galega orientalis* Lam.) in the central area of the Non-Chernozem zone. *Kormoproizvodstvo = Fodder Production*. 2012;6:20-21 (in Russian)]

Чесноков Ю.В., Артемьева А.М. Оценка меры информационного полиморфизма генетического разнообразия. *С.-х. биология*. 2015;5:571-578. DOI 10.15389/agrobiology.2015.5.571rus
[Chesnokov Yu.V., Artem'eva A.M. Estimation of the measure of information polymorphism of genetic diversity. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya = Agricultural Biology*. 2015;5:571-578. DOI 10.15389/agrobiology.2015.5.571eng]

Чесноков Ю.В., Косолапов В.М. Генетические ресурсы растений и ускорение селекционного процесса. М.: Угрешская тип., 2016
[Chesnokov Yu.V., Kosolapov V.M. Plant Genetic Resources and Acceleration of the Breeding Process. Moscow: Ugreshskaya Tipografiya, 2016 (in Russian)]

Alghamdi S., Al-Faifi S., Migdadi H., Khan M., El-harty E., Ammar M. Molecular diversity assessment using sequence related amplified polymorphism (SRAP) markers in *Vicia faba* L. *Int. J. Mol. Sci.* 2012;13:16457-16471. DOI 10.3390/ijms131216457

Alongi F., Hansen A.J., Laufenberg D., Keane R.E., Legg K., Lavin M. An economical approach to distinguish genetically needles of limber from whitebark pine. *Forests*. 2019;10(12):1060. DOI 10.3390/f10121060

Castonguay Y., Cloutier J., Bertrand A., Michaud R., Laberge S. SRAP polymorphisms associated with superior freezing tolerance in alfalfa (*Medicago sativa* spp. *sativa*). *Theor. Appl. Genet.* 2010;120(8):1611-1619. DOI 10.1007/s00122-010-1280-2

Comlekcioglu N., Simsek O., Boncuk M., Aka-Kacar Y. Genetic characterization of heat tolerant tomato (*Solanum lycopersicon*) genotypes by SRAP and RAPD markers. *Genet. Mol. Res.* 2010;9(4):2263-2274. DOI 10.4238/vol9-4gmr876

Gilbert J.E., Lewis R.V., Wilkinson M.J., Caligari P.D.S. Developing an appropriate strategy to assess genetic variability in plant germplasm collections. *Theor. Appl. Genet*. 1999;98:1125-1131. DOI 10.1007/s001220051176

Kress W.J. Plant DNA barcodes: applications today and in the future. *J. Syst. Evol.* 2017;55(4):291-307. DOI 10.1111/jse.12254

Kress W.J., García-Robledo C., Uriarte M., Erickson D.L. DNA barcodes for ecology, evolution, and conservation. *Trends Ecol. Evol.* 2015;30(1):25-35. DOI 10.1016/j.tree.2014.10.008

Li G., Quiros C.F. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in *Brassica*. *Theor. Appl. Genet.* 2001;103:455-461. DOI 10.1007/s001220100570

Loera-Sánchez M., Studer B., Kölliker R. DNA barcode trnH-psbA is a promising candidate for efficient identification of forage legumes and grasses. *BMC Res. Notes*. 2020;13(1):35. DOI 10.1186/s13104-020-4897-5

Nei M., Li W.H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1979;76(10):5269-5273. DOI 10.1073/pnas.76.10.5269

Peakall R.O.D., Smouse P.E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes*. 2006;6(1):288-295. DOI 10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x

Rhouma H.B., Taski-Ajdukovic K., Zitouna N., Sdouga D., Milic D., Trifi-Farah N. Assessment of the genetic variation in alfalfa genotypes using SRAP markers for breeding purposes. *Chil. J. Agric. Res*. 2017;77(4):332-339. DOI 10.4067/S0718-58392017000400332

Wang Z., Wang J.-E., Wang X.-M., Gao H.-W., Dzyubenko N.I., Chapurin V.F. Assessment of genetic diversity in *Galega officinalis* L. using ISSR and SRAP markers. *Genet. Resour. Crop Evol*. 2012;59(5):865-873. DOI 10.1007/s10722-011-9727-0

Yeh F.C., Yang R.C., Boyle T.B.J., Ye Z.H., Mao J.X. POPGENE, the User-friendly Shareware for Population Genetic Analysis, Molecular Biology and Biotechnology Centre. University of Alberta, 1997

Zolotarev V.N., Klimenko I.A., Kosolapov V.M., Korovina V.L., Antonov A.A. Marker-trait association for breeding fodder galega (*Galega orientalis* Lam.). *Russ. Agric. Sci*. 2022;48(4):270-275. DOI 10.3103/S1068367422040152

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 25.07.2024. После доработки 21.08.2024. Принята к публикации 26.08.2024.

Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции
Letters to Vavilov Journal of Genetics and Breeding
2024 • 10 • 3 • 151-157

pismavavilov.ru
DOI 10.18699/letvjgb-2024-10-17

Оригинальное исследование

Идентификация *Sr* генов возрастной устойчивости в отечественных сортах мягкой пшеницы методом молекулярно-генетического маркирования

Е.С. Сколотнева [1, 2] ✉, Ю.В. Лаприна[1], М.И. Киселева[2], В.Н. Кельбин [1], Т.М. Коломиец[2]

Аннотация: Генетические основы устойчивости мягкой пшеницы Нечерноземной зоны к возбудителю стеблевой ржавчины пшеницы, *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*, обусловлены генами, экспрессирующими возрастной тип устойчивости, ценность которых состоит в долгосрочной защите от популяции патогена, представленной различными по вирулентности клонами гриба. В пяти сортах яровой и трех сортах озимой пшеницы, включенных в Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию, по Центральному региону РФ, с помощью метода ПЦР-анализа определены гены возрастной устойчивости к *P. graminis* f. sp. *tritici*: *Sr2*, *Sr15*, *Sr22*, *Sr23* и *Sr57*. В генотипах трех сортов озимой мягкой пшеницы обнаружен ген возрастной устойчивости *Sr23*, сцепленный с геном устойчивости к бурой ржавчине *Lr16*, который встречается в селекционном материале мягкой яровой пшеницы Западной Сибири, обеспечивая эффективную защиту от ржавчинных болезней. В образцах яровой пшеницы найдены по одному-двум генам устойчивости: *Sr2*, *Sr15*, *Sr22*, *Sr57*. Фитопатологическая оценка материала в полевых условиях в сравнении со стандартами восприимчивости и устойчивости подтверждает, что сорта озимой мягкой пшеницы Московская 40, Немчиновская 24, Немчиновская 85, Сударыня, Злата, Каменка, Любава и яровой мягкой пшеницы Экада обладают качествами, способствующими получению более высокого урожая.

Ключевые слова: мягкая пшеница (*Triticum aestivum* L.); гены устойчивости; молекулярные маркеры; стеблевая ржавчина.
Для цитирования: Сколотнева Е.С., Лаприна Ю.В., Киселева М.И., Кельбин В.Н., Коломиец Т.М. Идентификация *Sr* генов возрастной устойчивости в отечественных сортах мягкой пшеницы методом молекулярно-генетического маркирования. *Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2024;10(3):151-157. DOI 10.18699/letvjgb-2024-10-17
Финансирование: Фитопатологический анализ образцов выполнен при поддержке бюджетного проекта FGGU-2022-0008, молекулярно-генетические исследования образцов проведены при поддержке бюджетного проекта FWNR-2022-0007.

Original article

Identification of adult resistance *Sr* genes in domestic common wheat varieties using molecular markers

E.S. Skolotneva [1, 2] ✉, Yu.V. Laprina[1], M.I. Kiseleva[2], V.N. Kelbin [1], T.M. Kolomiets[2]

Abstract: The resistance of the varieties of the Non-Chernozem zone against stem rust, *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*, is due to the adult resistance genes, which provide the long-term protection from the pathogen population represented by different virulence clones of the fungus. Using the PCR analysis method, in five varieties of spring and three varieties of winter wheat, released in the Central region of Russia, the adult plant resistant genes to *P. graminis* f. sp. *tritici* were determined *Sr2*, *Sr15*, *Sr22*, *Sr23* и *Sr57*. In the genotypes of three winter wheat varieties, the adult stem rust resistant gene *Sr23* was found, linked to brown rust resistance gene *Lr16*, which is also found in the germplasm of soft spring wheat in Western Siberia. One or two resistance genes were found in spring wheat samples: *Sr2*, *Sr15*, *Sr22*, *Sr57*. In this regard, the varieties Moskovskaya 40, Nemchinovskaya 24, Nemchinovskaya 85, Sudarinya, Zlata, Kamenka, Lyubava and Ekada in comparison with the susceptible and resistance standards, have qualities that contribute to obtaining a higher yield.

Key words: bread wheat (*Triticum aestivum* L.); resistance genes; molecular markers; stem rust.

[1] Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia
[2] Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии, р.п. Большие Вяземы, Одинцовский район, Московская область, Россия
All-Russian Scientific Research Institute of a Phytopathology, Bolshie Vyazemy, Odintsovo district, Moskow region, Russia
✉ sk-ska@yandex.ru

© Сколотнева Е.С., Лаприна Ю.В., Киселева М.И., Кельбин В.Н., Коломиец Т.М., 2024

Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0

For citation: Skolotneva E.S., Laprina Yu.V., Kiseleva M.I., Kelbin V.N., Kolomiets T.M. Identification of adult resistance *Sr* genes in domestic common wheat varieties using molecular markers. *Pisma v Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Letters to Vavilov Journal of Genetics and Breeding.* 2024;10(3):151-157. DOI 10.18699/letvjgb-2024-10-17 (in Russian)
Funding: Phytopathological analysis of samples was carried out with the support of budget project FGGU-2022-0008, molecular genetic studies of samples were carried out with the support of budget project FWNR-2022-0007.

Введение

Стеблевую ржавчину пшеницы, вызываемую облигатным грибом *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*, относят к болезням, причиняющим значительный экономический ущерб не только в России, но и во многих районах возделывания культуры в мире (Санин и др., 2010; Dean et al., 2012; Рсалиев А.С., Рсалиев Ш.С., 2018). Часто на посевах сортов пшеницы, восприимчивых к патогену, возникают эпифитотии гриба, приводящие к тотальному уничтожению растений. Широко известный пример – появление в 1998 г. в Уганде (Восточная Африка) расы стеблевой ржавчины Ug99 и ее модификаций Ug99+*Sr24*, Ug99+*Sr36* оказалось катастрофичным для стран Северной Африки и Центральной Азии (Singh et al., 2011). В регионах возделывания мягкой пшеницы в Российской Федерации стеблевую ржавчину отмечают регулярно, как правило, в конце вегетации. Естественным барьером распространения патогена в центральных и северо-восточных районах России считают климат, не соответствующий экологическим «предпочтениям» гриба (Шаманин и др., 2015). В этих условиях к факторам, негативно влияющим на интенсивность развития гриба, относят сочетание температур и влажности в период от колошения до созревания хлебов, а также холодные продолжительные зимы с частыми оттепелями. Однако нельзя исключать массового появления стеблевой ржавчины при благоприятных условиях погоды и миграции спор воздушными потоками (Синяк, Волкова, 2015). В последние годы практически повсеместно наблюдают тенденцию к более интенсивному проявлению этой болезни, что, в свою очередь, вызывает повышенное внимание к исследованиям, направленным на разработку иммунологической устойчивости пшеницы (Kokhmetova et al., 2011; Shamanin et al., 2016).

Основные методы борьбы с *P. graminis* f. sp. *tritici* включают использование химических средств защиты и возделывание устойчивых сортов. Причем последний способ считают менее дорогостоящим и экологически значимым для сельского хозяйства в целом. Прерогатива селекционных исследований заключается в создании сортов пшеницы, генетическая основа устойчивости которых обусловливается сочетанием генов, обеспечивающих многоуровневый иммунитет растения, в том числе и против возбудителя стеблевой ржавчины пшеницы.

С появлением методов тонкого картирования генов устойчивости изучение генома пшеницы идет ускоренными темпами, список молекулярных маркеров к генам устойчивости очень быстро увеличивается (Сколотнева и др., 2017). К настоящему времени генотипирование коллекций мягкой пшеницы, подобно коллекции «Арсенал» (Федеральный исследовательский центр «Немчиновка») (Гайнуллин и др., 2007; Лапочкина и др., 2016) сортов, вовлеченных в челночную селекцию (Shamanin et al., 2016), и видов-сородичей пшеницы (Баранова и др., 2015), привело к накоплению информации о донорах генов устойчивости к патогену. Однако анализ отечественных и зарубежных исследований генетической основы устойчивости селекционного материала показывает, что они фокусируются главным образом на поиске специфических генов устойчивости или мажорных, отвечающих за лиганд-рецепторное узнавание патогена (Сколотнева, Салина, 2019; Кельбин и др., 2020). Их проще идентифицировать в поле и на лабораторном столе, а также популярность их объясняется видимым эффектом при введении в селекционный материал. Однако после включения в Госреестр РФ и интенсивного внедрения в производство сорта с главными генами подвергаются риску быстрой потери устойчивости из-за появления новых вирулентных рас патогена. В отношении возбудителей ржавчинных заболеваний коммерческие сорта мягкой пшеницы оказываются восприимчивыми к инфекции уже через 7–10 лет (Коваль и др., 2010).

Введение в генотип дополнительных генов, отвечающих за возрастную устойчивость, повышает гарантии длительного иммунитета у нового сорта или селекционной линии. Механизм действия таких генов до конца не изучен, но большинство из них отвечает за количественную составляющую устойчивости к патогену (Krattinger et al., 2009).

Цель настоящего исследования – выявление с помощью метода молекулярно-генетического маркирования *Sr* генов возрастной устойчивости в сортах озимой и яровой мягкой пшеницы, районированных в Нечерноземной зоне Российской Федерации.

Материалы и методы

Для идентификации генов возрастной устойчивости к возбудителю стеблевой ржавчины методом молекулярного маркирования по результатам фитопатологической оценки типа устойчивости было отобрано 13 отечественных сортов мягкой пшеницы, включенных в Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию, по Центральному региону РФ: озимые (оригинатор ФИЦ «Немчиновка») – Московская 39, Московская 40, Московская 56, Немчиновская 17, Немчиновская 24, Немчиновская 57, Немчиновская 85; яровые – Агата, Экада (ФИЦ «Немчиновка»), Злата, Любава (ФИЦ «Немчиновка» и Верхневолжский федеральный аграрный научный центр), Сударыня и Каменка (Верхневолжский ФАНЦ). В качестве контроля использованы сорта пшеницы Чебаркульская 3 (озимая) и Хакасская (яровая).

Фитопатологическую оценку сортов осуществляли в полевом питомнике Всероссийского научно-исследовательского института фитопатологии (ФГБНУ ВНИИФ, Московская

область) на фоне естественной популяции патогена в 2015 (озимые), 2017 и 2021 гг. (яровые). Для этого на посевах сортов озимой и яровой пшеницы, начиная с появления первых признаков болезни, проводили оценку интенсивности поражения растений по шкале Кобба в динамике каждую неделю, вплоть до созревания пшеницы (Peterson et al., 1948). При каждом учете интенсивность поражения стеблевой ржавчиной оценивали не менее чем на 20–50 растениях каждого сорта.

Тип реакции растений определяли по шкале, рекомендованной Международным центром улучшения пшеницы и кукурузы (CYMMIT) (Койшыбаев и др., 2014), где 0R – иммунный тип; TR – почти иммунный тип: пустулы не развиваются, но заметны пятна, связанные с реакцией сверхчувствительности (0;); R – устойчивый тип: мелкие пустулы, окруженные некротической зоной (1 балл, поражение до 5 %); MR – умеренно устойчивый тип: пустулы небольших размеров, окруженные хлорозом или некротической каймой (2 балла, поражение до 25 %); MS – умеренно восприимчивый тип: пустулы средней величины, некроз отсутствует, но могут развиваться зоны хлороза (3 балла, поражение до 40 %); S – восприимчивый тип: пустулы крупные, часто сливающиеся (4 балла, поражение более 60 %).

Период от появления первых признаков болезни до ее максимального развития на растениях пшеницы растягивался примерно на 1.5–2 недели, что соответствовало 3–4 полевым оценкам динамики развития *P. graminis* f. sp. *tritici* на сортах пшеницы.

Исследования по выявлению генов устойчивости к *P. graminis* f. sp. *tritici* в отобранных генотипах проводили на базе лаборатории молекулярной фитопатологии Федерального исследовательского центра Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук (г. Новосибирск). Выделение ДНК из образцов осуществляли с использованием метода экстракции CTAB, модифицированного для растительного материала (Michiels et al., 2003). Поиск в сортах озимой и яровой пшеницы генов возрастной устойчивости к стеблевой ржавчине выполнен методом ПЦР-анализа со специфическими праймерами к маркерам генов *Sr2* (*Xgwm533*), *Sr15* (*Xsts638*), *Sr22* (*CFA2019*), *Sr23* (*RGA-266585*) и *Sr57* (*csLV34*) по протоколам, приведенным на сайте MASWHEAT (https://maswheat.ucdavis.edu/protocols).

В качестве положительных контролей использовали сорта и линии мягкой пшеницы, любезно предоставленные к. б. н. А.И. Моргуновым (CIMMYT, The International Maize and Wheat Improvement Center), несущие гены *Sr2* (Arthur), *Sr15* (W2692/NORKA-SR15), *Sr22* (SWSR22T.B), *Sr23* (EXCHANGE-SR23), *Sr57* (NIL-THATCHER-LR34-PI58548). Реактивы для постановки ПЦР (смесь БиоМастер *HS-Taq* ПЦР-Color, буфер для проведения реакции, Hot Start Taq ДНК полимераза), а также маркер молекулярных масс (ДНК-маркер Step50 plus) были поставлены фирмой «Биолабмикс» (https://biolabmix.ru/catalog/pcr/). Для исключения присутствия в генотипе генов специфической устойчивости к анализу были привлечены также известные молекулярные маркеры к генам *Sr25*, *Sr26*, *Sr31*, *Sr35*, *Sr38*, *Sr39*, *Sr44*, *Sr45* (https://maswheat.ucdavis.edu/protocols).

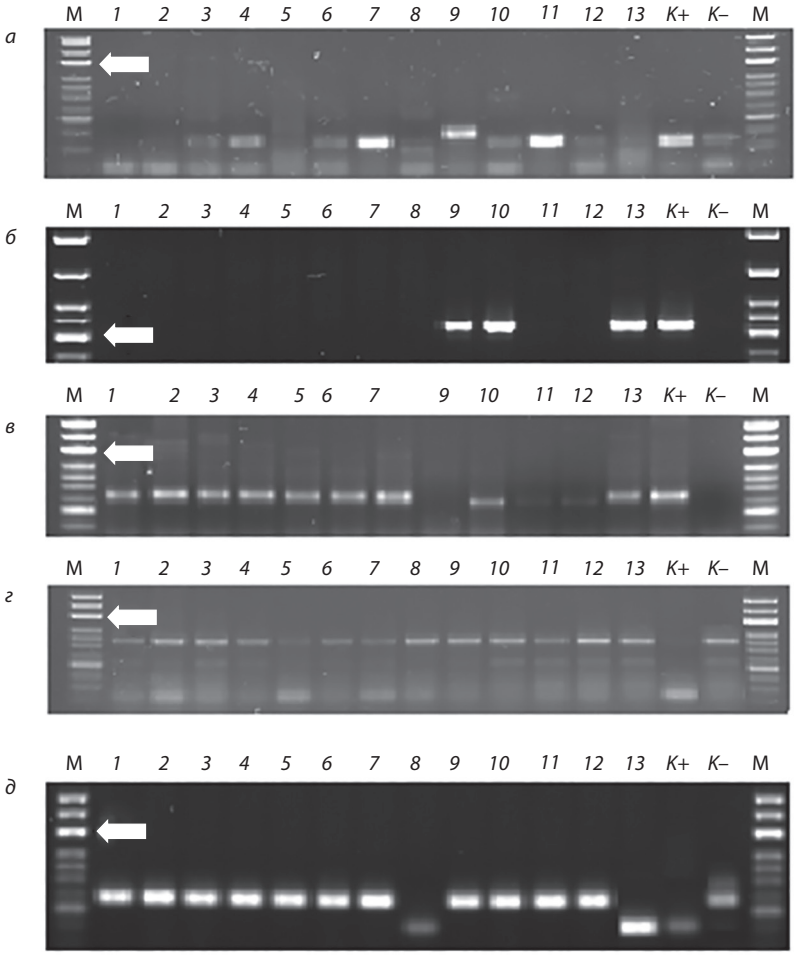
Результаты

В годы испытаний в инфекционном питомнике ФГБНУ ВНИИФ (Московская область) признаки поражения *P. graminis* f. sp. *tritici* появлялись на сортах озимой и яровой пшеницы отечественной селекции в фазу молочной спелости. Условия погоды, сложившиеся в 2015, 2017 и 2021 гг., были благоприятными для развития возбудителя стеблевой ржавчины на посевах пшеницы. Независимо от года исследования, конечный уровень поражения восприимчивого контроля озимой пшеницы сорта Чебаркульская 3 составил 80 %, яровой пшеницы сорта Хакасская – 100 % при восприимчивом типе реакции (S). Для дальнейшего исследования образцов с помощью молекулярных маркеров к генам возрастной устойчивости были отобраны сорта, на которых формировались пустулы гриба с устойчивым (R, MR) или слабовосприимчивым (MS) типами реакции, а интенсивность поражения озимых менялась от 5 до 40 %, яровых – от 25 до 40 % (см. таблицу).

Согласно данным, полученным методом молекулярно-генетического маркирования, у восьми сортов мягкой яровой и озимой пшеницы, районированных в Московской области, отмечено наличие генов возрастной устойчивости, контролирующих развитие *P. graminis* f. sp. *tritici*: Московская 40, Немчиновская 24, Немчиновская 85, Сударыня, Злата, Каменка, Любава и Экада. Среди указанных сортов не обнаружено носителей генов специфической устойчивости *Sr25*, *Sr26*, *Sr31*, *Sr35*, *Sr38*, *Sr39*, *Sr44*, *Sr45*.

На рисунке приведены результаты электрофоретического разделения продуктов амплификации при использовании специфических праймеров к генам *Sr2*, *Sr15*, *Sr22*, *Sr23* и *Sr57*. Размер диагностического фрагмента при ПЦР-идентификации маркера *Xgwm533* к гену *Sr2* соответствует 120 п. н. Маркер обнаружен на матрицах сортов Немчиновская 85 и Сударыня. Маркер *Xsts638* к гену *Sr15* получен на матрицах сортов Злата, Каменка и Экада, его диагностический фрагмент имеет размер 542 п. н. Для поиска гена *Sr22* использована пара микросателлитных праймеров, CFA2019 F и CFA2019 R. Маркер размером 238 п. н. был получен на ДНК-матрицах сорта Злата. Маркер *RGA-266585* к гену *Sr23*, имеющий короткий диагностический фрагмент размером 57 п. н., обнаружен на ДНК-матрицах образцов Московская 40, Немчиновская 24, Немчиновская 85. При ПЦР-идентификации кодоминантного маркера *csLV34* к гену *Sr57* амплифицируются два фрагмента, 150 и 229 п. н. Присутствие в генотипе первого более короткого резистентного аллеля свидетельствует о том, что образец обладает соответствующим типом возрастной устойчивости. Среди протестированного материала аллель маркера *csLV34* к гену *Sr57*, экспрессирующий резистентность, обнаружен у сортов Любава и Экада.

Высокую устойчивость к стеблевой ржавчине (5–10 % R, MR) проявили четыре сорта озимой пшеницы, в двух из которых были обнаружены диагностические фрагменты молекулярных маркеров на гены *Sr23* (Немчиновская 24) и *Sr2*, *Sr23* (Немчиновская 85). Слабым уровнем поражения и устойчивым типом реакции к *P. graminis* f. sp. *tritici* характеризовались сорта яровой пшеницы Злата (*Sr15*, *Sr22*), Экада (*Sr15*, *Sr57*) и сорт озимой пшеницы Московская 40 (*Sr23*).



Идентификация генов возрастной устойчивости *Sr2*, *Sr15*, *Sr22*, *Sr23* и *Sr57* в образцах 13 отечественных сортов мягкой пшеницы, районированных в Нечерноземной зоне Российской Федерации, с помощью молекулярных маркеров.

а – амплификация маркера *Xgwm533* к гену *Sr2*; *б* – амплификация маркера *Xsts638* к гену *Sr15*; *в* – амплификация маркера *CFA2019* к гену *Sr22*; *г* – амплификация маркера *RGA-266585* к гену *Sr23*; *д* – амплификация маркера *csLV34* к гену *Sr57*. M – ДНК-маркер Step50 plus; стрелка указывает на маркерный фрагмент размером 500 п. н. *1* – Московская 39; *2* – Московская 40; *3* – Московская 56; *4* – Немчиновская 7; *5* – Немчиновская 24; *6* – Немчиновская 57; *7* – Немчиновская 85; *8* – Любава; *9* – Злата; *10* – Каменка; *11* – Сударыня; *12* – Агата; *13* – Экада

Identification of adult resistance genes *Sr2*, *Sr15*, *Sr22*, *Sr23*, and *Sr57* in samples of 13 domestic varieties of bread wheat, released in the Non-Chernozem zone of the Russian Federation, using molecular markers.

a – amplification of the *Xgwm533* marker to the *Sr2* gene; *b* – amplification of the *Xsts638* marker to the *Sr15* gene; *c* – amplification of the *CFA2019* marker to the *Sr22* gene; *d* – amplification of the *RGA-266585* marker to the *Sr23* gene; *e* – amplification of the *csLV34* marker to the *Sr57* gene. M – DNA marker Step50 plus; the arrow indicates the marker fragment of 500 bp. *1* – Moskovskaya 39; *2* – Moskovskaya 40; *3* – Moskovskaya 56; *4* – Nemchinovskaya 7; *5* – Nemchinovskaya 24; *6* – Nemchinovskaya 57; *7* – Nemchinovskaya 85; *8* – Lyubava; *9* – Zlata; *10* – Kamenka; *11* – Sudarynya; *12* – Agatha; *13* – Ekada

Несмотря на то что интенсивность поражения двух сортов озимой пшеницы и четырех сортов яровой была несколько выше (40 %), на них образовывались пустулы устойчивого и умеренно восприимчивого типов. Из них в четырех сортах яровой пшеницы методом молекулярного анализа были определены гены: Любава, Экада – *Sr57*, Каменка, Экада – *Sr15*, Сударыня – *Sr2*.

Образцы, в генотипе которых выявлено большее количество генов возрастной устойчивости, при полевых испытаниях оказались менее пораженными стеблевой ржавчиной. Так, сочетание двух генов, *Sr15* и *Sr57*, обнаруженное в генотипе сорта Экада, лучше сдерживало развитие болезни по сравнению с образцом сорта Любава с одним идентифицированным геном, *Sr57* (до 25MR против 40MR). Комбинация генов *Sr15* и *Sr22* у сорта Злата оказалась эффективнее единичного гена возрастной устойчивости *Sr15* у сорта Каменка (до 25MR против 40MR). Таким образом, с большой долей вероятности можно утверждать, что данные, полученные методом ПЦР-анализа генов устойчивости к возбудителю стеблевой ржавчины пшеницы, подтверждаются результатами фитопатологической оценки сортов пшеницы.

Результаты полевой оценки развития стеблевой ржавчины на районированных сортах мягкой пшеницы в условиях инфекционного питомника ФГБНУ ВНИИФ (Московская область) в 2015, 2017, 2021 гг. и идентификации генов *Sr* методом молекулярно-генетического маркирования
The field scoring for the stem rust disease of releasing bread wheat varieties in the infectious nursery of the Federal State Budgetary Institution VNIIF (Moscow region) in 2015, 2017, 2021 and identification of *Sr* genes using the molecular genetic markers

Сорт пшеницы	Тип реакции	Интенсивность поражения, %	Ген *Sr*
Озимые сорта пшеницы (максимальные показатели полевых испытаний 2015, 2017 гг.)			
Чебаркульская 3	S	80	–
Московская 39	MR, MS	40	–
Московская 40	R, MR	25	*Sr23*
Московская 56	MR, MS	40	–
Немчиновская 17	TR, R	10	–
Немчиновская 24	TR, R	10	*Sr23*
Немчиновская 57	TR, R	5	–
Немчиновская 85	0R	15	*Sr2*, *Sr23*
Яровые сорта пшеницы (максимальные показатели полевых испытаний 2017, 2021 гг.)			
Хакасская	S	100	–
Агата	MR, MS	40	–
Экада	R, MR	25	*Sr15*, *Sr57*
Любава	MR	40	*Sr57*
Злата	R, MR	25	*Sr15*, *Sr22*
Каменка	MR	40	*Sr15*
Сударыня	MR	40	*Sr2*

Обсуждение

Диагностика методом молекулярного маркирования генов *Sr* в 13 сортах яровой и озимой пшеницы, районированных в Нечерноземной зоне России, включая Московскую область, выявила в 10 из них наличие 5 генов, отвечающих за возрастную устойчивость: *Sr2* (Немчиновская 85 и Сударыня), *Sr15* (Злата, Каменка и Экада), *Sr22* (Злата), *Sr23* (Московская 40, Немчиновская 24, Немчиновская 85), *Sr57* (Любава). При этом в сортах озимой пшеницы встречался ген *Sr23*, а в сортах яровой – *Sr15*. По данным зарубежных исследователей, ген *Sr23* возрастной устойчивости к стеблевой ржавчине сцеплен с геном *Lr16*, отвечающим за экспрессию как ювенильной, так и возрастной устойчивости к бурой ржавчине (McIntosh, Luig, 1973). Он также встречается в селекционном материале мягкой яровой пшеницы Западной Сибири, обеспечивая эффективную защиту против ржавчинных заболеваний (Kelbin et al., 2022).

Интерес представляют сорта Любава и Экада, в генотипе которых определен резистентный аллель маркера *csLV34* к гену *Sr57*. Этот плейотропный ген *Sr57* (*Lr34/Yr18/Pm38/Bdv1*) широко применяется в селекции на иммунитет при создании пирамиды генов. Он обеспечивает неспецифическую устойчивость к биотрофным патогенам, описанную на различных инфекционных фонах как возрастная устойчивость (McIntosh et al., 1993). Большинство сортов омской и казахской селекции, обладающих длительной устойчивостью к *P. graminis* f. sp. *tritici*, являются носителями гена *Sr57* (Shamanin et al., 2016).

Ген *Sr2*, молекулярный маркер которого определен в сортах Немчиновская 85 и Сударыня, на сегодняшний день – один из наиболее популярных генов неспецифической устойчивости в селекции на иммунитет к стеблевой ржавчине. Комбинации с *Sr2* повсеместно, за исключением Канады, обладают эффективностью, обеспечивая устойчивость взрослых растений (Лапочкина и др., 2018; Кельбин и др., 2020).

У сортов Немчиновская 85 (*Sr23* и *Sr2*), Злата (*Sr15* и *Sr22*) и Экада (*Sr57* и *Sr15*) обнаружены сложные генотипы, состоящие из двух генов возрастной устойчивости. Данные сорта обладают генетическими основами длительной устойчивости. Они могут быть рекомендованы в качестве исходного материала при скрещивании с носителями специфических генов устойчивости, таких как *Sr24*, *Sr31*, *Sr25*, широко представленными в современных зерновых хозяйствах страны (Baranova et al., 2019).

Заключение

Отечественные сорта мягкой яровой и озимой пшеницы Московская 40, Немчиновская 24, Немчиновская 85, Сударыня, Злата, Каменка, Любава и Экада являются носителями генов

возрастной устойчивости, обеспечивающими урожайность в условиях Нечерноземной полосы России. Кроме того, их можно использовать в качестве источников устойчивости для создания новых пирамидированных генотипов, эффективных против местной популяции *P. graminis* f. sp. *tritici*.

Список литературы / References

Баранова О.А., Лапочкина И.Ф., Анисимова А.В., Гайнуллин Н.Р., Иорданская И.В., Макарова И.Ю. Идентификация генов *Sr* у новых источников устойчивости мягкой пшеницы к расе стеблевой ржавчины Ug99 с использованием молекулярных маркеров. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2015;19(3):316-322. DOI 10.18699/VJ15.041

[Baranova O.A., Lapochkina I.F., Anisimova A.V., Gajnullin N.R., Iordanskaya I.V., Makarova I.Yu. Identification of *Sr* genes in new common wheat sources of resistance to stem rust race Ug99 using molecular markers. *Russ. J. Genet. Appl. Res.* 2016;6(3):344-350. DOI 10.1134/S2079059716030011]

Гайнуллин Н.Р., Лапочкина И.Ф., Жемчужина А.И., Киселева М.И., Коломиец Т.М., Коваленко Е.Д. Использование фитопатологического и молекулярно-генетических методов для идентификации генов устойчивости к бурой ржавчине у образцов мягкой пшеницы с чужеродным генетическим материалом. *Генетика*. 2007;43(8):1058-1064

[Gajnullin N.R., Lapochkina I.F., Zhemchuzhina A.I., Kiseleva M.I., Kolomiets T.M., Kovalenko E.D. Phytopathological and molecular genetic identification of leaf rust resistance genes in common wheat accessions with alien genetic material. *Russ. J. Genet*. 2007;43(8):875-881. DOI 10.1134/S1022795407080078]

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 Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2020;24(8):821-828. DOI 10.18699/VJ20.679 (in Russian)]

Коваль С.Ф., Шаманин В.П., Коваль В.С. Стратегия и тактика отбора в селекции растений. Омск, 2010

[Koval S.F., Shamanin V.P., Koval V.S. Selection Strategy and Tactics in Plant Breeding. Omsk: Omsk State Agrarian University Publ., 2010 (in Russian)]

Койшыбаев М., Шаманин В.П., Моргунов А.И. Скрининг пшеницы на устойчивость к основным болезням: Метод. указания. Анкара: ФАО-СЕК, 2014

[Koyshybaev M., Shamanin V.P., Morgunov A.I. Wheat Screening for Resistance to Major Diseases: Guidelines. Ankara: FAO-SEK Publ., 2014 (in Russian)]

Лапочкина И.Ф., Баранова О.А., Шаманин В.П., Волкова Г.В., Гайнуллин Н.Р., Анисимова А.В., Галингер Д.Н., Лазарева Е.Н., Гладкова Е.В., Ваганова О.Ф. Создание исходного материала яровой мягкой пшеницы для селекции на устойчивость к стеблевой ржавчине (*Puccinia graminis* Pers. f. sp. *tritici*), в том числе и к расе Ug99, в России. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2016;20(3):320-328. DOI 10.18699 /VJ16.167

[Lapochkina I.F., Baranova O.A., Shamanin V.P., Volkova G.V., Gainullin N.R., Anisimova A.V., Galinger D.N., Lazareva E.N., Gladkova E.V., Vaganova O.F. The development of initial material of spring common wheat for breeding for resistance to stem rust (*Puccinia graminis* Pers. f. sp. *tritici*), uncluding race Ug99, in Russia. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2016;20(3):320-328. DOI 10.18699 /VJ16.167

Лапочкина И.Ф., Баранова О.А., Гайнуллин Н.Р., Волкова Г.В., Гладкова Е.В., Ковалева Е.О., Осипова А.В. Создание линий озимой пшеницы с несколькими генами устойчивости к *Puccinia graminis* Pers. f. sp. *tritici* для использования в селекционных программах России. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2018;22(6):676-684. DOI 10.18699/VJ18.410

[Lapochkina I.F., Baranova O.A., Gajnullin N.R., Volkova G.V., Gladkova E.V., Kovaleva E.O., Osipova A.V. The development of winter wheat lines with several genes for resistance to *Puccinia graminis* Pers. f. sp. *tritici* for use in breeding programs in Russia. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2018;22(6):676-684. DOI 10.18699/VJ18.410 (in Russian)]

Рсалиев А.С., Рсалиев Ш.С. Основные подходы и достижения в изучении расового состава стеблевой ржавчины пшеницы. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2018;22(8):967-977. DOI 10.18699/VJ18.439

[Rsaliyev A.S., Rsaliyev Sh.S. Principal approaches and achievements in studying race composition of wheat stem rust. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2018;22(8):967-977. DOI 10.18699/VJ18.439 (in Russian)]

Санин С.С., Назарова Л.Н., Стрижекозин Ю.А., Корнева Л.Г., Жохова Т.П., Полякова Т.М., Копорова Т.И. Фитосанитарная обстановка на посевах пшеницы в Российской Федерации (1991–2008 гг.). *Защита и карантин растений*. 2010;2:69-80

[Sanin S.S., Nazarova L.N., Strizhekozin Yu.A., Korneva L.G., Zhokhova T.P., Polyakova T.M., Koporova T.I. Phytosanitary situation on wheat crops in the Russian Federation (1991–2008). *Zashchita i Karantin Rastenij = Plant Protection and Quarantine*. 2010;2:69-80 (in Russian)]

Синяк Е.В., Волкова Г.В. Распространение и вирулентность популяции возбудителя *Puccinia graminis* Pers. f. sp. *tritici* Eriks. et Henn. на юге России. *Молодой ученый*. 2015;89(2):70-71

[Sinyak E.V., Volkova G.V. Spreading and virulence of *Puccinia graminis* Pers. f. sp. *tritici* Eriks. et Henn. in Southern Russia. *Molodoj Uchenyj = Young Scientist*. 2015;89(2):70-71 (in Russain)]

Сколотнева Е.С., Салина Е.А. Разнообразие механизмов устойчивости, вовлеченных в многоуровневый иммунитет пшеницы к ржавчинным заболеваниям. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2019;23(5):542-550. DOI 10.18699/VJ19.523

[Skolotneva E.S., Salina E.A. Resistance mechanisms involved in complex immunity of wheat against rust diseases. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2019;23(5):542-550. DOI 10.18699/VJ19.523 (in Russian)]

Сколотнева Е.С., Леонова И.Н., Букатич Е.Ю., Салина Е.А. Методические подходы к идентификации эффективных генов, определяющих устойчивость пшеницы к комплексу грибных заболеваний. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2017;21(7):862-869. DOI 10.18699/VJ17.307

[Skolotneva E.S., Leonova I.N., Bukatich E.Yu., Salina E.A. Methodical approaches to identification of effective wheat genes providing broad-spectrum resistance against fungal diseases. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2017;21(7):862-869. DOI 10.18699/VJ17.307 (in Russian)]

Шаманин В.П., Потоцкая И.В., Кузьмина С.П., Трущенко А.Ю., Чурсин А.С. Селекция яровой мягкой пшеницы на устойчивость к стеблевой ржавчине в Западной Сибири. Омск: Изд-во ФГБОУ ВПО ОмГАУ, 2015

[Shamanin V.P., Pototskaya I.V., Kuzmina S.P., Trushchenko A.Yu., Chursin A.S. Spring Soft Wheat Breeding for Stem Rust Resistance in Western Siberia. Omsk: Omsk State Agrarian University Publ., 2015 (in Russian)]

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. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2019;23(2):296-303. DOI 10.18699/VJ19.494

Dean R., Van Kan J.A.L., Pretorius Z.A., Hammond-Kosack K.E., Di Pietro A., Spanu P.D., Rudd J.J., Dickman M., Kahmann R., Ellis J., Foster G.D. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Mol. Plant Pathol.* 2012;13(4):414-430. DOI 10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x

Kelbin V.N., Skolotneva E.S., Shamanin V.P., Salina E.A. Diversity of stem rust resistance in modern Siberian bread wheat (*Triticum aestivum*) germplasm. *Plant Breed*. 2022;141(2):194-203. DOI 10.1111/pbr.12999

Kokhmetova A., Morgunov A., Rsaliev S., Rsaliev A., Yessenbekova G., Typina L. Wheat germplasm screening for stem rust resistance using conventional and molecular techniques. *Czech J. Genet. Plant Breed*. 2011;47(10):S146-S154. DOI 10.17221/3270-CJGPB

Krattinger S.G., Lagudah E.S., Spielmeyer W., Singh R.P., Huerta-Espino J., McFadden H., Bossolini E., Selter L.L., Keller B. A putative ABC transporter confers durable resistance to multiple fungal pathogens in wheat. *Science*. 2009;323(5919):1360-1363. DOI 10.1126/science.1166453

McIntosh R.A., Luig N.H. Linkage of genes for reaction *to Puccinia graminis* f. sp. *tritici* and *P. recondita* in Selkirk wheat and related cultivars. *Aust. J. Biol. Sci.* 1973;26:1145-1152. DOI 10.1071/BI9731145

McIntosh R.A., Hart G., Gale M. Catalogue of gene symbols for wheat. In: Proceedings of the 8th International Wheat Genetics Symposium. China Agricultural Scientech Press, 1993;1333-1500

Michiels A., Van Den Ende W., Tucker M., Van Riet L., Van Laere A. Extraction of high-quality genomic DNA from latex-containing plants. *Anal. Biochem*. 2003;315(1):85-89. DOI 10.1016/S0003-2697(02)00665-6

Peterson R.F., Campbell A.B., Hannah A.E. A diagrammatic scale for estimating rust intensity on leaves and stems of cereals. *Canad. J. Res*. 1948;26:496-500

Shamanin V., Salina E., Wanyera R., Zelenskiy Y., Olivera P., Morgounov A. Genetic diversity of spring wheat from Kazakhstan and Russia for resistance to stem rust Ug99. *Euphytica*. 2016;212(2):287-296. DOI 10.1007/s10681-016-1769-0

Singh R.P., Hodson D.P., Huerta-Espino J., Jin Y., Bhavani S., Njau P., Herrera-Foessel S., Singh P.K., Singh S., Govindan V. The emergence of Ug99 races of the stem rust fungus is a threat to world wheat production. *Annu. Rev. Phytopathol*. 2011;49:465-481. DOI 10.1146/annurev-phyto-072910-095423

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 16.08.2024. После доработки 26.08.2024. Принята к публикации 30.08.2024.

Письма в ВАВИЛОВСКИЙ ЖУРНАЛ ГЕНЕТИКИ И СЕЛЕКЦИИ
Letters to Vavilov Journal of Genetics and Breeding
2024 • 10 • 3 • 158-165

pismavavilov.ru
DOI 10.18699/letvjgb-2024-10-18

Оригинальное исследование

Изучение адаптивных и хозяйственно ценных признаков у нового сорта яровой мягкой пшеницы Сигма 5, созданного на основе дигаплоидной линии

И.А. Белан [1] ✉, Л.П. Россеева [1], Н.П. Блохина [1], Я.В. Мухина [1], Ю.П. Григорьев [1], И.В. Пахотина [1], Л.В. Мешкова [1], А.А. Гайдар [1], Н.В. Трубачеева [2], В.К. Шумный [2], Л.А. Першина [2]

Аннотация: Один из путей ускорения селекционного процесса основан на использовании в качестве исходных генотипов ДГ-линий (гаплоидов с удвоенным числом хромосом). В данной работе приведена характеристика по хозяйственно ценным показателям линии ДГ 48-3, которая изучалась с 2016 по 2022 г. по ускоренной селекционной схеме, начиная с селекционного питомника второго года, затем третьего (дважды) года изучения и конкурсного сортоиспытания. В результате на основе этой линии за шесть лет был создан новый сорт яровой мягкой пшеницы Сигма 5. В 2024 г. сорт включен в Государственный реестр селекционных достижений Российской Федерации по 9, 10 и 11-му регионам. Сорт Сигма 5 среднеспелый, ценный по качеству зерна, характеризуется высокой устойчивостью к листостебельным заболеваниям. Устойчивость к стеблевой ржавчине обеспечивается действием гена *Sr31*, к бурой ржавчине и мучнистой росе – действием генов *Lr* и *Pm*, интрогрессированных от *Triticum dicoccoides*. Сорт обладает высокой потенциальной продуктивностью: средняя урожайность в КСИ за 2019–2021 гг. составила 5.57 т/га. В годы массового развития ржавчинных заболеваний (2019 и 2020) его урожайность была 5.76 и 6.14 т/га соответственно, что превысило показатель неустойчивого к стеблевой ржавчине сорта-стандарта Дуэт на 3.73 и 4.05 т/га. Новый сорт превосходит сорт-стандарт и по следующим показателям качества зерна: натуре зерна, массе 1000 зерен, содержанию белка и клейковины, силе муки.

Ключевые слова: пшеница мягкая яровая; ДГ-линия; селекция; сорт; устойчивость; урожайность; качество зерна.
Для цитирования: Белан И.А., Россеева Л.П., Блохина Н.П., Мухина Я.В., Григорьев Ю.П., Пахотина И.В., Мешкова Л.В., Гайдар А.А., Трубачеева Н.В., Шумный В.К., Першина Л.А. Изучение адаптивных и хозяйственно ценных признаков у нового сорта яровой мягкой пшеницы Сигма 5, созданного на основе дигаплоидной линии. *Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2024;10(3):158-165. DOI 10.18699/letvjgb-2024-10-18
Финансирование: Работа поддержана бюджетными проектами ФГБНУ «Омский аграрный научный центр» № FNUN-2022-0026 и ИЦиГ СО РАН № FWNR-2022-0017.

Original article

Study of adaptive and agronomically important traits in the new spring bread wheat variety Sigma 5, developed on the basis of the double haploid line

I.A. Belan [1] ✉, L.P. Rosseeva [1], N.P. Blokhina [1], Y.V. Mukhina [1], Y.P. Grigoriev [1], I.V. Pakhotina [1], L.V. Meshkova [1], A.A. Gaydar [1], N.V. Trubacheeva [2], V.K. Shumny [2], L.A. Pershina [2]

Abstract: One of the approaches to accelerate the breeding programs is the use of doubled haploid (DH) lines as initial genotypes. This paper describes valuable agronomic traits of the DH line 48-3, which was studied from 2016 to 2022 according to an accelerated breeding scheme, starting with the breeding nursery of the second year (BN-2), then the third (BN-3) (twice) year of study and competitive variety trial (CVT 1, CVT 2, CVT 3). As a result, based on this line, a new variety of spring bread wheat, Sigma 5, was developed in six years.

[1] Омский аграрный научный центр, Омск, Россия
Omsk Agrarian Scientific Center, Omsk, Russia
[2] Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia
✉ belan_skg@mail.ru

© Белан И.А., Россеева Л.П., Блохина Н.П., Мухина Я.В., Григорьев Ю.П., Пахотина И.В., Мешкова Л.В., Гайдар А.А., Трубачеева Н.В., Шумный В.К., Першина Л.А., 2024

Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0

In 2024, the variety was included in the State register of breeding achievements of the Russian Federation in regions 9, 10 and 11. The variety Sigma 5 is middle-ripening, valuable for grain quality, high resistant to leaf-stem diseases. Resistance to stem rust is due to gene *Sr31*, and resistance to leaf rust and powdery mildew is due to genes *Lr* and *Pm* introgressed from *Triticum dicoccoides*. The variety has a high potential productivity: the average yield in the CVT for 2019–2021 was 5.57 t/ha. During the years of massive development of rust diseases (2019 and 2020), its yield was 5.76 and 6.14 t/ha, respectively, which exceeded the standard variety Duet, which was not resistant to stem rust, by 3.73 and 4.05 t/ha. The new variety exceeds the standard variety in the following parameters of grain quality: grain unit, 1000-grain weight, protein and gluten content, and flour strength.
Key words: bread spring wheat; DH line; breeding; variety; resistance; yield; grain quality.
For citation: Belan I.A., Rosseeva L.P., Blokhina N.P., Mukhina Y.V., Grigoriev Y.P., Pakhotina I.V., Meshkova L.V., Gaydar A.A., Trubacheeva N.V., Shumny V.K., Pershina L.A. Study of adaptive and agronomically important traits in the new spring bread wheat variety Sigma 5, developed on the basis of the double haploid line. *Pisma v Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Letters to Vavilov Journal of Genetics and Breeding.* 2024;10(3):158-165. DOI 10.18699/letvjgb-2024-10-18 (in Russian)
Funding: This work was supported by State Budgetary Projects FNUN-2022-0026 for the Omsk Agrarian Scientific Center and FWNR-2022-0017 for ICG SB RAS.

Введение

Пшеница – одна из основных культур в мире, обеспечивающих экономическую и продовольственную безопасность. Широкое распространение мягкой пшеницы обусловлено высокой кормовой и пищевой ценностью зерна, которое востребовано в Российской Федерации (Morgounov et al., 2011). По данным Росстата, в 2023 г. посевные площади яровой мягкой пшеницы в РФ составили 14.1 млн га (https://www.agroinvestor.ru/companies/a-z/rosstat/). Основные регионы ее возделывания – Поволжье, Урал, Западная и Восточная Сибирь (Амунова и др., 2021). В Омской области под яровой мягкой пшеницей в 2021 г. было занято 1.29 млн га. При этом более 60 % от общих посевов яровой мягкой пшеницы пришлось на сорта селекции ФГБНУ «Омский АНЦ» (Белан и др., 2021).

Создаваемые сорта при высокой продуктивности и высоком качестве зерна должны характеризоваться комплексной устойчивостью к абиотическим и биотическим стрессам, что особенно актуально в контрастных климатических условиях Омской области и при сильном распространении в регионе листостебельных грибных патогенов, таких как мучнистая роса (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*), бурая ржавчина (*Puccinia triticina* Eriks.), стеблевая ржавчина (*Puccinia graminis* Pers. f. sp. *tritici*) (Россеева и др., 2017). Более того, изменение климата, появление у патогенов новых вирулентных биотипов и рас требуют проведения опережающей селекции при получении новых сортов, способных адаптироваться к изменяющимся условиям выращивания (Ahmar et al., 2020).

Выведение нового сорта – это, как правило, длительный, затратный и трудоемкий процесс, занимающий в селекции мягкой пшеницы от 12 до 15 лет (Barkley, Chumley, 2012; Белан и др., 2021). На сегодняшний день актуальным является ускоренное создание новых сортов с использованием традиционных методов селекции и современных молекулярно-генетических технологий (Ahmar et al., 2020), в том числе и в связи с импортозамещением в РФ зарубежных сортов сельскохозяйственных культур (Нардин, Нардина, 2023). При традиционных методах создания исходных линий мягкой пшеницы для селекции, у которых стабилизировано проявление целевых признаков, необходимо получить от шести до восьми самоопыленных поколений, отбирая зерна или колосья от элитных растений (Barkley, Chumley, 2012).

Для ускорения этого процесса в ряде селекционных программ используют гомозиготные ДГ-линии (двойные гаплоиды, т. е. гаплоиды с удвоенным числом хромосом), полученные в результате культивирования пыльников, изолированных микроспор или гибридизации пшеницы с видами-гаплопродюсерами (Barkley, Chumley, 2012; Srivastava, Singh, 2018; Slama-Ayed et al., 2019). ДГ-линии возможно получить в течение одного года. Поскольку они гомозиготные, а действие рецессивных генов у них проявляется наряду с доминантными, то ДГ-линии могут быть быстро проанализированы в повторных испытаниях. Такой подход значительно сокращает продолжительность отборов и, соответственно, время создания новых сортов (Srivastava, Singh, 2018).

Гены, ответственные за устойчивость к заболеваниям и вредителям, со временем утрачивают свою эффективность, поэтому в геном пшеницы следует вводить новые гены устойчивости или их сочетания (Hao et al., 2020). Получение гомозиготных ДГ-линий – это способ фиксации в одном генотипе сочетания серии целевых генов, перенесенных от разных родителей (пирамидирование генов) (Servin et al., 2004; Pershina et al., 2020).

Кроме того, важное направление использования ДГ-линий в селекции – это включение их в скрещивания с другими линиями при получении нового селекционного материала (Belan et al., 2010; Першина и др., 2018). В предыдущих работах нами показана эффективность такого подхода на примере создания сортов яровой мягкой пшеницы Сигма (Белан и др., 2012) и Уралосибирская 2 (Белан и др., 2018).

В 2022 г., после шести лет селекционной работы в лаборатории яровой мягкой пшеницы ФГБНУ «Омский АНЦ» с использованием исходного материала, полученного в лаборатории хромосомной инженерии злаков ИЦиГ СО РАН, одна из дигаплоидных линий, ДГ 48-3, была передана на Госсортоиспытание в качестве сорта яровой мягкой пшеницы Сигма 5. В 2024 г. сорт Сигма 5 был включен в Госреестр по Уральскому (9), Западно-Сибирскому (10) и Восточно-Сибирскому (11) регионам (https://gossortrf.ru/registry/gosudarstvennyy-reestr-selektsionnykh-dostizheniy-dopushchennykh-k-ispolzovaniyu-tom-1-sorta-rasteni/sigma-5-pshenitsa-myagkaya-yarovaya/). В настоящей работе приведены основные данные, полученные в процессе селекционной проработки линии ДГ 48-3 и характеризующие созданный на ее основе новый сорт яровой мягкой

пшеницы Сигма 5 по адаптивным и хозяйственно ценным признакам.

Материал и методы

Происхождение сорта Сигма 5 (линии ДГ 48-3). Линия ДГ 48-3 была сформирована от одного из андрогенных 42-хромосомных растений, регенерировавших в культуре пыльников гибридной комбинации (Л-311/00-22-4 // Л.XI / 2870 *T. dicoccoides* 1325-1330) поколения F_3. Особенности культивирования пыльников, развития андрогенных растений, формирование и отбор ДГ-линий для селекции описаны ранее (Pershina et al., 2020). Материнский генотип гибридной комбинации – линия Л-311/00-22-4 – является потомком аллоплазматической рекомбинантной ДГ-линии (*H. vulgare*)-*T. aestivum* и несет пшенично-ржаную транслокацию 1RS.1BL (Першина и др., 2018) с генами *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8*, контролирующими устойчивость к грибным патогенам (Singh et al., 1990). Эта транслокация присутствует и у линии ДГ 48-3 (Pershina et al., 2020). Ранее на основе линии Л-311/00-22-4 был создан сорт яровой мягкой пшеницы Уралосибирская 2 (Белан и др., 2018; Першина и др., 2018).

Отцовская форма гибридной комбинации (линия Л.XI / 2870 *T. dicoccoides* 1325-1330 2870) получена, охарактеризована и предоставлена для нашей работы С.Н. Сибикеевым с коллегами (Дружин и др., 2012). По данным авторов цитированной статьи, эта линия отличается высокой устойчивостью к патогенам листовой ржавчины и мучнистой росы благодаря действию генов *Lr* и *Pm*, интрогрессированных в геном мягкой пшеницы от *T. dicoccoides*. Ранее выполненный анализ выявил комплексную устойчивость ДГ-линий, полученных на основе растений гибридной комбинации (Л-311/00-22-4 // Л.XI / 2870 *T. dicoccoides* 1325-1330), к патогенам мучнистой росы, бурой ржавчины и стеблевой ржавчины (Pershina et al., 2020).

В зависимости от региона выращивания в качестве контроля при изучении сорта Сигма 5 (ДГ 48-3) использовали среднеспелый сорт-стандарт Дуэт, носитель гена устойчивости к бурой ржавчине *Lr9* (Гультяева и др., 2022), или среднеранний сорт Памяти Азиева.

Условия полевых испытаний. Селекционная линия ДГ 48-3, наряду с девятью другими ДГ-линиями этой же гибридной комбинации, изучалась с 2016 по 2022 г. по ускоренной селекционной схеме. Согласно этой схеме, испытания начали проводить в селекционных питомниках второго (СП-2) и третьего (СП-3) (дважды) лет изучения, а также конкурсного сортоиспытания (КСИ 1, КСИ 2, КСИ 3). В СП-2 площадь делянок 3 м^2, в СП-3 – 10 м^2. Полевые исследования выполнены на полевом участке лаборатории селекции яровой мягкой пшеницы ФГБНУ «Омский АНЦ» в зоне южной лесостепи Омской области. Посев проводили сеялкой ССФК-7 М, уборку – с использованием малогабаритного комбайна «ХЕГЕ-125». Почва опытного участка лугово-черноземная, среднемощная, среднесуглинистая с тяжелосуглинистым гранулометрическим составом. Параллельно конкурсное сортоиспытание по двум предшественникам (пару и после зерновых) линии ДГ 48-3 в 2019–2021 гг. проводили в отделе семеноводства ФГБНУ «Омский АНЦ» (вблизи от поля лаборатории селекции яровой мягкой пшеницы). Кроме того, дополнительно на опытном участке отдела северного земледелия ФГБНУ «Омский АНЦ» (населенный пункт Тара в подтаежной зоне Омской области) в 2021 и 2022 гг. осуществлялись экологические испытания ДГ-линии 48-3. Для этого региона характерно теплое непродолжительное лето с резкими колебаниями температуры в течение суток. Почва опытного участка серая лесная, с тяжелосуглинистым гранулометрическим составом.

Климат Омской области отличается сильной контрастностью и резкими колебаниями метеорологических факторов. В норме в Омске гидротермический коэффициент (ГТК), рассчитанный по Селянинову, составляет 1.13, в Таре – 1.46. По метеорологическим условиям 2019-й г. (начало испытаний в КСИ) в Омской области характеризовался как среднезасушливый (ГТК в мае–августе составил 0.99); 2020-й – как засушливый (ГТК = 0.58); в 2021 г. отмечена сильная засуха (ГТК = 0.55), а 2022-й был очень контрастным по месяцам: от сильной засухи в мае (ГТК = 0.45) до избыточного увлажнения в июле (ГТК = 1.90), но в среднем недостаточным по увлажнению (ГТК = 1.00 в мае–августе).

В течение пяти лет селекционных испытаний, с 2016 по 2020, в Омской области наблюдалось эпифитотийное развитие грибных заболеваний, чему способствовали обильные росы (Россеева и др., 2017). В 2021 г. погодные условия с июля по первую декаду августа характеризовались высокой температурой и недобором осадков, что оказалось неблагоприятным для развития бурой и стеблевой ржавчины. Однако погодные условия июня были благоприятны для развития патогена мучнистой росы. Восприимчивые сорта яровой мягкой пшеницы были поражены на 70–80 % (Россеева и др., 2017). Таким образом, в 2021 г. (последний год селекционных испытаний линии ДГ 48-3) была возможность оценить изучаемые генотипы на устойчивость как к патогенам мучнистой росы, так и к сильной засухе.

Методы изучения хозяйственно ценных признаков сорта. Наблюдения и учеты по всем питомникам выполнялись в соответствии с «Методикой государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур» (1985). Оценены следующие признаки: вегетационный период, высота растений, урожайность, элементы продуктивности (продуктивная кустистость, число зерен в колосе, масса зерна главного колоса, масса 1000 зерен). Статистическую обработку данных проводили по методике (Доспехов, 2011) с применением пакета статистических программ (MS Excel). Качество зерна оценивали по показателям: натура (ГОСТ 10840-2017), содержание белка и клейковины в зерне (ГОСТ Р 54478-2011) и хлебопекарное качество (объем, внешний вид хлеба и структура мякиша), используя методики и классификационные нормы Государственной комиссии по испытанию сельскохозяйственных растений. Устойчивость к грибным патогенам изучали в полевых условиях на естественном и на искусственном инфекционном фоне. За основу брали международную шкалу для оценки устойчивости к патогенам мучнистой росы (Asad et al., 2014), бурой и стеблевой ржавчинам (Peterson et al., 1948). Использована следующая оценка устойчивости: 0 – иммунный тип; степень поражения: 1–10 % – устойчивый (R); 11–30 % – умеренно устойчивый (MR); 31–60 % – умеренно восприимчивый (MS);

Таблица 1. Поражение линии ДГ 48-3 (сорта Сигма 5) листостебельными патогенами на естественном и искусственном фоне

Table 1. Damage of DH line 48-3 (var. Sigma 5) by leaf-stem pathogens on natural and artificial backgrounds

Год	Питомник	Поражение линии ДГ 48-3, %					
		мучнистой росой		бурой ржавчиной		стеблевой ржавчиной	
		Дуэт	ДГ 48-3	Дуэт	ДГ 48-3	Дуэт	ДГ 48-3
Естественный фон							
2016	СП-2	MS	0	0	0	HS	0
2017	СП-3	MS	0	0	0	HS	R
2018	СП-3	MR	0	0	0	HS	0
2019	КСИ 1	MR	R	0	0	HS	0
2020	КСИ 2	MS	0	0	0	HS	R
2021	КСИ 3	MS	0	Нет	Нет	Нет	Нет
Инфекционный фон							
2019	КСИ 1	MS	MR	R	0	HS	0
2020	КСИ 2	MS	MR	R	0	HS	R
2021	КСИ 3	MS	MR	R	R	HS	R

Примечание. HS – сильно восприимчивый; MS – умеренно восприимчивый; MR – умеренно устойчивый; R – устойчивый.

61–80 % – восприимчивый (S); 81 % и выше – сильно восприимчивый (HS).

Результаты и обсуждение

Из девяти ДГ-линий, прошедших испытания в селекционных питомниках, перспективными для дальнейшей селекции оказались две линии. Работа с одной из них продолжается, а с другой – ДГ 48-3, завершена созданием сорта. Результаты изучения устойчивости линии ДГ 48-3 к листостебельным патогенам на естественном и инфекционном поле представлены в табл. 1.

В период эпифитотийного развития грибных заболеваний с 2016 по 2020 г. линия ДГ 48-3 в полевых условиях на естественном фоне проявила высокую устойчивость к патогену стеблевой ржавчины. Этот результат подтвержден и при тестировании на инфекционном фоне в 2019–2021 гг. Сорт-стандарт Дуэт, напротив, показал сильную восприимчивость к возбудителю стеблевой ржавчины во все годы испытаний и на естественном, и на инфекционном фоне. Высокую устойчивость линии ДГ 48-3 к стеблевой ржавчине можно объяснить действием гена *Sr31*, локализованного в хромосоме ржи 1R, присутствующей у этой линии в составе пшенично-ржаной транслокации 1RS.1BL (Pershina et al., 2020). Это объяснение согласуется с фактом сохранения эффективности гена *Sr31* на территории РФ против всех российских популяций возбудителя стеблевой ржавчины (Баранова и др., 2019, 2023).

Линию ДГ 48-3 отличает умеренная резистентность к мучнистой росе и высокая – к бурой ржавчине (см. табл. 1). К мучнистой росе на естественном фоне линия ДГ 48-3 практически во все годы проявила иммунность, а на инфекционном – умеренную устойчивость. Сорт-стандарт Дуэт только в 2018 и 2019 гг. характеризовался умеренной устойчивостью на естественном фоне, а в остальные годы исследований был средневосприимчивым к патогену мучнистой росы как на естественном, так и на инфекционном фоне. Линия ДГ 48-3 является носителем двух генов устойчивости к мучнистой росе: *Pm8*, локализованного в коротком плече хромосомы ржи 1R, и гена, интрогрессированного от *T. dicoccoides* (Дружин и др., 2012). Учитывая, что ген *Pm8* утратил свою эффективность еще в 90-х гг. прошлого столетия (Hsam, Zeller, 2002), следует считать, что резистентность линии ДГ 48-3 к мучнистой росе контролируется геном, переданным с генетическим материалом от *T. dicoccoides*.

Что касается устойчивости к бурой ржавчине, то во все годы испытаний линия ДГ 48-3, как и сорт-стандарт Дуэт, проявила высокую устойчивость к популяциям этого патогена. У сорта Дуэт устойчивость определяется действием гена *Lr9*, носителем которого он является (Гультяева и др., 2022). У линии ДГ 48-3 присутствуют два гена устойчивости к бурой ржавчине: *Lr26*, локализованный в хромосоме ржи 1RS, который относят к малоэффективным (Гультяева, Шайдаюк, 2021), и высокоэффективный доминантный ген, интрогрессированный от *T. dicoccoides* (Дружин и др., 2012). Этот ген, по-видимому, и определяет высокую устойчивость линии ДГ 48-3 к бурой ржавчине.

В процессе селекционной работы было отмечено, что признаки, характерные для линии ДГ 48-3, включая устойчивость к листостебельным патогенам, во всех поколениях проявлялись стабильно без расщепления. В табл. 2 приводятся данные, полученные при изучении линии ДГ 48-3 в питомнике КСИ лаборатории селекции яровой мягкой пшеницы в 2019–2021 гг.

По вегетационному периоду линия ДГ 48-3 во все годы изучения достоверно не отличалась от среднеспелого сорта-стандарта Дуэт, что позволяет отнести ее к группе среднеспелых сортов. Продолжительность вегетационного периода у этой линии составляла от 75 сут (2020 г.) до 90 сут (2019). По высоте растений во все годы испытаний линия ДГ 48-3 достоверно превышала стандарт. Среднее значение высоты растений у ДГ 48-3 варьировало от 93 до 133 см, а у сорта-стандарта Дуэт – от 82 до 118 см.

Анализ основных признаков, определяющих продуктивность растений, показал, что по длине колоса, числу зерен

Таблица 2. Характеристика линии ДГ 48-3 (сорта Сигма 5) по фенологии, элементам продуктивности и качеству зерна, КСИ 2019–2021 гг.

Table 2. Characteristics of the DH 48-3 line (var. Sigma 5) in terms of phenology, productivity elements and grain quality, CVT 2019–2021

Показатель	2019			2020			2021		
	Дуэт	ДГ 48-3	$НСР_{0.05}$	Дуэт	ДГ 48-3	$НСР_{0.05}$	Дуэт	ДГ 48-3	$НСР_{0.05}$
Урожайность, т/га	2.03	5.76*	0.1	2.09	6.14*	0.27	4.36	4.86	0.43
Вегетационный период, сут	89	90	0.9	75	75	–	82	79	1.7
Высота растений, см	118	133*	4.3	109	123*	3.1	82	93.0*	8.4
Продуктивная кустистость, шт.	2.0	3.1*	0.54	2.4	3.1	0.66	2.15	1.93	0.32
Длина колоса, см	9.4	12.0*	0.62	7.4	9.8*	0.29	7.8	9.7*	0.83
Число зерен в колосе, шт.	27.8	43.9*	8.4	27.6	39.0*	4.7	30.5	37.3*	5.3
Масса зерна главного колоса, г	0.6	1.7*	0.4	0.5	1.8*	0.20	1.1	1.5*	0.15
Масса 1000 зерен, г	19.4	37.1*	4.6	19.5	41.9*	2.0	34.6	37.0*	1.7
Натура, г/л	595	758*	21.3	642	760*	11.1	758	732	9.3
Белок, %	11.7	14.4*	0.49	14.4	16.1*	0.13	16.7	18.1*	0.45
Клейковина, %	26.6	31.5*	0.99	27.7	32*	0.19	34.9	34.2	1.1
Сила муки, е. а.	313	473*	40.7	251	446*	35.4	293	419*	42.9
Объем хлеба, $см^3$	1120*	920	31.1	980	1030	67.1	1120	920	60.9

* $p < 0.05$.

в колосе, массе зерна с главного колоса и массе 1000 зерен линия ДГ 48-3 превышала соответствующие значения у сорта-стандарта Дуэт, независимо от года выращивания в питомнике КСИ. Так, средняя длина колоса у линии ДГ 48-3 варьировала от 9.7 см в 2021 г. до 12.0 см в 2019 г., а у стандарта – от 7.4 см (2020) до 9.4 см (2019). Минимальное среднее число зерен в колосе (37.3 шт.) у линии ДГ 48-3 было в 2021 г., а максимальное (43.9 шт.) – в 2019 г. У сорта-стандарта значение этого показателя изменялось от 27.6 (2020) до 30.5 шт. (2021).

Обращает на себя внимание факт, что в годы массового развития ржавчинных заболеваний (2019 и 2000) средние значения массы зерна главного колоса и массы 1000 зерен у сорта-стандарта Дуэт были почти в два раза ниже по сравнению с 2021 г., когда проявлялась только мучнистая роса (см. табл. 2). Так, минимальное среднее значение массы зерна главного колоса у сорта-стандарта Дуэт составило 0.6 г (2019 г.), а максимальное – 1.1 г (2021); минимальное среднее значение массы 1000 зерен – 19.4 г (2019), максимальное – 34.6 г (2021). Учитывая, что сорт Дуэт сильно поражается стеблевой ржавчиной, мы можем сделать вывод о сильном негативном влиянии этого патогена на развитие зерновок у восприимчивых генотипов пшеницы. Что касается устойчивой к стеблевой ржавчине линии ДГ 48-3, то независимо от времени испытаний средние значения показателей массы зерна главного колоса и массы 1000 зерен были на высоком уровне: 1.5–1.8 г и 37.0–41.9 г соответственно. Продуктивная кустистость у линии ДГ 48-3 была достоверно выше, чем у стандарта, в 2019 г., оставаясь на уровне стандарта в 2020 и 2021 гг. Значение показателя натуры у линии ДГ 48-3 было на уровне стандарта в 2021 г. и достоверно превышало его в 2019 и 2020 гг.

По такому показателю качества, как содержание белка в зерне, линия ДГ 48-3 превосходила стандарт во все годы КСИ (см. табл. 2). Средние значения у линии ДГ 48-3 варьировали от 14.4 % (2019 г.) до 18.1 % (2021), у стандарта – от 11.7 % (2019) до 16.7 % (2021). По содержанию клейковины линия ДГ 48-3 превышала стандарт в 2019 и 2020 гг., оставаясь на одном уровне по значению этого показателя с сортом-стандартом в 2021 г. Значение показателя силы муки во все годы наблюдения у линии ДГ 48-3 было достоверно выше, чем у стандарта, а значение показателя объема хлеба – на уровне стандарта в 2020 и 2021 гг., но ниже, чем у стандарта, в 2019 г. В целом показатели качества у линии ДГ 48-3 выше или на уровне ценных пшениц.

В годы испытаний, когда наблюдалось эпифитотийное развитие грибных заболеваний (2019 и 2020), устойчивая линия ДГ 48-3 значительно превосходила сорт-стандарт Дуэт по урожайности (см. табл. 2). Так, в 2019 г. урожайность устойчивой к листостебельным патогенам линии ДГ 48-3 составила 5.76 т/га, а в 2020 – 6.14 т/га, что почти в три раза выше, чем у сорта-стандарта Дуэт (2.03 и 2.09 т/га соответственно). В 2021 г., когда отмечалось только проявление мучнистой росы, урожайность линии ДГ 48-3 была на уровне стандарта. Из приведенных данных на примере сорта-стандарта Дуэт следует, какой сильный урон урожайности (>65 %) наносит стеблевая ржавчина. Именно устойчивость к этому заболеванию обеспечивает высокую урожайность линии ДГ 48-3 (сорту Сигма 5). Данные, полученные при изучении линии ДГ 48-3 (сорта Сигма 5), выращенной в питомнике КСИ в отделе семеноводства по двум разным предшественникам, представлены в табл. 3.

По паровому предшественнику линия ДГ 48-3 в среднем за четыре года испытаний превышала стандарт на 2.27 т/га,

Таблица 3. Урожайность (т/га) линии ДГ 48-3 (сорта Сигма 5) в зависимости от фона посева, КСИ 2019–2022 гг.
Table 3. Productivity (t/ha) of the DH 48-3 line (var. Sigma 5) depending on the sowing background, CVT 2019–2022

Год	Посев по пару			Посев после зерновых		
	Дуэт (St.)	ДГ 48-3	$НСР_{05}$	Дуэт (St.)	ДГ 48-3	$НСР_{05}$
2019	3.13	6.48*	0.26	2.93	3.82*	0.17
2020	2.00	6.02*	0.24	2.92	6.21*	0.26
2021	3.28	4.55*	0.20	2.29	2.78*	0.17
2022	3.52	3.81*	0.28	1.99	2.09	0.15
Среднее	2.98	5.25	0.16	2.53	3.76	0.22

* $p < 0.05$.

Таблица 4. Продолжительность вегетационного периода и урожайность линии ДГ 48-3 (сорта Сигма 5)
Table 4. Duration of the growing season and yield of the DH 48-3 line (var. Sigma 5)

Показатель	2021 г.			2022 г.		
	Памяти Азиева	ДГ 48-3	$НСР_{0.05}$	Памяти Азиева	ДГ 48-3	$НСР_{0.05}$
Вегетационный период, сут	79	80	1.5	90	91	2
Урожайность, т/га	1.75	3.94*	0.24	4.18	5.29*	0.33

Примечание. Испытания проводились в населенном пункте Тара, питомник КСИ, посев по пару, 2021–2022 гг.
* $p < 0.05$.

при посеве после зерновых – на 1.23 т/га. В эпифитотийные годы листостебельных заболеваний (2019 и 2020) урожайность линии ДГ 48-3 была значительно выше по сравнению с сортом-стандартом Дуэт: на 3.35 т/га в 2019 г. и на 4.02 т/га в 2020 г. При выращивании в менее благоприятных условиях – после зерновых, урожайность линии ДГ 48-3 превышала сорт-стандарт на 0.89 т/га в 2019 и 3.29 т/га в 2020 г.

В засушливые годы (2021 и 2022) урожайность линии ДГ 48-3 по паровому предшественнику в среднем превысила стандарт на 0.78 т/га. При посеве после зерновых в 2021 г. урожайность линии ДГ 48-3 достоверно превышала стандарт на 0.49 т/га, а в 2022 г. была на уровне сорта-стандарта Дуэт.

Недостаточная экологическая устойчивость сорта часто бывает причиной увеличения разрыва между потенциальной и реальной урожайностью. Испытание сортов в разных экологических условиях позволяет подробнее изучить стабильность поведения генотипа сорта, его норму реакции. В табл. 4 приведены данные, полученные при экологических испытаниях линии ДГ 48-3 (сорта Сигма 5) в подтаежной зоне Омской области. В этих условиях линия ДГ 48-3 по вегетационному периоду (80–91 сут) была на уровне среднераннего сорта-стандарта Памяти Азиева (79–90 сут). Значение урожайности в оба года испытаний у линии ДГ 48-3 было достоверно выше по сравнению с сортом-стандартом, в среднем превышая его на 1.65 т/га.

Таким образом, установлено, что линия ДГ 48-3 (сорт яровой мягкой пшеницы Сигма 5) адаптирована к агроклиматическим условиям Омской области.

Заключение

В селекционной работе с гомозиготной дигаплоидной линией ДГ 48-3 отсутствовала необходимость проведения предварительных отборов для проявления однородности целевых признаков у растений. На всех этапах испытаний все признаки сохранялись стабильно без расщепления. Это касается и высокой устойчивости к листостебельным патогенам, которая определяется влиянием эффективных генов устойчивости, зафиксированных в геноме дигаплоидной линии. Селекционные испытания, выполненные по ускоренной схеме, позволили за шесть лет на основе линии ДГ 48-3 создать высокопродуктивный сорт яровой мягкой пшеницы, который под названием Сигма 5 в 2021 г. был передан на Государственное сортоиспытание, а в 2024 г. включен в Государственный реестр селекционных достижений Российской Федерации по трем регионам (9, 10 и 11). Название сорта Сигма 5 отражает его происхождение: объединение (Сигма) в гомозиготном состоянии (1) генотипа мягкой пшеницы (2) с цитоплазмой, имеющей происхождение от культурного ячменя (3), наличием пшенично-ржаной транслокации (4) и интрогрессий от *T. dicoccoides* (5).

Патентообладатели сорта: ФГБНУ «Омский аграрный научный центр» (ФГБНУ «Омский АНЦ») и ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН).

Авторы сорта: И.А. Белан, Л.П. Россеева, Н.П. Блохина, Я.В. Мухина, Ю.П. Григорьев, И.В. Пахотина, Л.В. Мешкова, А.А. Гайдар, Л.А. Першина, Н.В. Трубачеева, В.К. Шумный.

Список литературы / References

Амунова О.С., Волкова Л.В., Зуев Е.В., Харина А.В. Исходный материал для селекции мягкой яровой пшеницы в условиях Кировской области. *Аграр. наука Евро-Северо-Востока*. 2021;22(5):661-675. DOI 10.30766/2072-9081.2021.22.5.661-675
[Akhmanova O.S., Volkova L.V., Zuev E.V., Kharina A.V. Source material for breeding bread spring wheat in the Kirov region. *Agrarnaya Nauka Evro-Severo-Vostoka = Agricultural Science of the Euro-North-East*. 2021;22(5):661-675. DOI 10.30766/2072-9081.2021.22.5.661-675 (in Russian)]

Баранова О.А., Сибикеев С.Н., Дружин А.Е. Молекулярная идентификация генов устойчивости к стеблевой ржавчине в интрогрессивных линиях яровой мягкой пшеницы. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2019;23(3):296-303. DOI 10.18699/VJ19.494
[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. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding.* 2019;23(3):296-303. DOI 10.18699/VJ19.494 (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 Selektsii = Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding.* 2023;184(1):177-186. DOI 10.30901/2227-8834-2023-1-177-186 (in Russian)]

Белан И.А., Блохина Н.П., Валуева Л.Г., Девяткина Э.П., Зыкин В.А., Игнатьева Е.Ю., Ложникова Л.Ф., Мешкова Л.В., Моргунов А.И., Пахотина И.В., Першина Л.А., Поползухин П.В., Россеев В.М., Россеева Л.П., Шепелев С.С., Шумный В.К. Пшеница мягкая яровая Сигма. Патент на селекционное достижение № 7950. 2012 г.
[Belan I.A., Blokhina N.P., Valueva L.G., Devyatkina E.P., Zykin V.A., Ignatieva E.Yu., Lozhnikova L.F., Meshkova L.V., Morgunov A.I., Pakhotina I.V., Pershina L.A., Popolzukhin P.V., Rosseev V.M., Rosseeva L.P., Shepelev S.S., Shumny V.K. Bread Spring Wheat Sigma. Patent for a breeding achievement No. 7950. 2012 (in Russian)]

Белан И.А., Белова Л.И., Девяткина Э.П., Зыкин В.А., Иванов В.В., Исламов М.Н., Кетов А.А., Ложникова Л.Ф., Мешкова Л.В., Немченко В.В., Пахотина И.В., Першина Л.А., Россеев В.М., Россеева Л.П. Пшеница мягкая яровая Уралосибирская 2. Патент на селекционное достижение № 9568. 2018 г.
[Belan I.A., Belova L.I., Devyatkina E.P., Zykin V.A., Ivanov V.V., Islamov M.N., Ketov A.A., Lozhnikova L.F., Meshkova L.V., Nemchenko V.V., Pakhotina I.V., Pershina L.A., Rosseev V.M., Rosseeva L.P. Bread Spring Wheat Uralosibirskaya 2. Patent for breeding achievement No. 9568. 2018 (in Russian)]

Белан И.А., Россеева Л.П., Блохина Н.П., Григорьев Ю.П., Мухин Я.В., Трубачеева Н.В., Першина Л.А. Ресурсный потенциал сортов пшеницы мягкой яровой для условий Западной Сибири и Омской области (аналитический обзор). *Аграр. наука Евро-Северо-Востока*. 2021;22(4):449-465. DOI 10.30766/2072-9081.2021.22.4.449-465
[Belan I.A., Rosseeva L.P., Blokhina N.P., Grigoriev Yu.P., Mukhin Ya.V., Trubacheeva N.V., Pershina L.A. The resource potential of bread spring wheat varieties for the conditions of Western Siberia and the Omsk region (analytical review). *Agrarnaya Nauka Evro-Severo-Vostoka = Agricultural Science of the Euro-North-East.* 2021;22(4):449-465. DOI 10.30766/2072-9081.2021.22.4.449-465 (in Russian)]

Гультяева Е.И., Шайдаюк Е.Л. Идентификация генов устойчивости к бурой ржавчине у новых российских сортов мягкой пшеницы. *Биотехнология и селекция растений.* 2021;4(2):15-27. DOI 10.30901/2658-6266-2021-2-o2
[Gultyaeva E.I., Shaydayuk E.L. Identification of leaf rust resistance genes in the new Russian varieties of common wheat. *Biotehnologiya i Selektsiya Rastenij = Plant Biotechnology and Breeding.* 2021;4(2):15-27. DOI 10.30901/2658-6266-2021-2-o2 (in Russian)]

Гультяева Е.И., Шайдаюк Е.Л., Веселова В.В., Смирнова Р.Е., Зуев Е.В., Хакимова А.Г., Митрофанова О.П. Разнообразие новых российских сортов мягкой пшеницы по генам устойчивости к бурой ржавчине. *Труды по прикл. ботанике, генетике и селекции*. 2022;183(4):208-218. DOI 10.30901/2227-8834-2022-4-208-218
[Gultyaeva E.I., Shaidayuk E.L., Veselova V.V., Smirnova R.E., Zuev E.V., Khakimova A.G., Mitrofanova O.P. Diversity of new Russian bread wheat cultivars according to leaf rust resistance genes. *Trudy po Prikladnoy Botanike, Genetike i Selektsii = Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2022;183(4):208-218. DOI 10.30901/2227-8834-2022-4-208-218 (in Russian)]

Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). М.: Альянс, 2011
[Dospekhov B.A. Methodology of Field Experience (with the basics of statistical processing of research results). Moscow: Alliance Publ., 2011 (in Russian)]

Дружин А.Е., Сибикеев С.Н., Крупнов В.А. Увеличение генетического разнообразия саратовских пшениц методами интрогрессивной селекции как развитие идей Н.И. Вавилова. *Вестн. Саратов. госагроуниверситета*. 2012;10:33-38
[Druzhin A.E., Sibikeev S.N., Krupnov V.A. The increased genetic diversity of Saratov bread wheat using introgressive breeding in the development of N.I. Vavilov ideas. *Vestnik Saratovskogo Gosagrouniversiteta = Bulletin of the Saratov State Agrarian University.* 2012;10:33-38 (in Russian)]

Методика государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур. Вып. 1. Общая часть. М., 1985
[Methodology for State Variety Testing of Agricultural Crops. Iss. 1. General part. Moscow, 1985 (in Russian)]

Нардин Д.С., Нардина С.А. Анализ использования сортов российской и зарубежной селекции при производстве яровой мягкой пшеницы на территории Омской области. *Экономика, предпринимательство и право*. 2023;13(12):5817-5830. DOI 10.18334/epp.13.12.119958
[Nardin D.S., Nardina S.A. Analysis of the use of varieties of Russian and foreign breeding in the production of spring soft wheat in the Omsk region. *Ekonomika, Predprinimatel'stvo i Pravo = Economics, Entrepreneurship and Law.* 2023;13(12):5817-5830. DOI 10.18334/epp.13.12.119958 (in Russian)]

Першина Л.А., Белова Л.И., Трубачеева Н.В., Осадчая Т.С., Шумный В.К., Белан И.А., Россеева Л.П., Немченко В.В., Абакумов С.Н. Аллоплазматические рекомбинантные линии (*H. vulgare*)-*T. aestivum* с транслокацией 1RS.1BL: исходные генотипы для создания сортов яровой мягкой пшеницы. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2018;22(5):544-552. DOI 10.18699/VJ18.393
[Pershina L.A., Belova L.I., Trubacheeva N.V., Osadchaya T.S., Shumnyj V.K., Belan I.A., Rosseeva L.P., Nemchenko V.V., Abakumov S.N. Alloplasmic recombinant lines (*H. vulgare*)-*T. aestivum* with 1RS.1BL translocation: initial genotypes for production of common wheat varieties. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding.* 2018;22(5):544-552. DOI 10.18699/VJ18.393]

Россеева Л.П., Белан И.А., Мешкова Л.В., Блохина Н.П., Ложникова Л.Ф., Осадчая Т.С., Трубачеева Н.В., Першина Л.А. Селекция на устойчивость к стеблевой ржавчине яровой мягкой пшеницы в Западной Сибири. *Вестн. Алт. гос. аграр. ун-та.* 2017;7(153):5-12
[Rosseeva L.P., Belan I.A., Meshkova L.V., Blokhina N.P., Lozhnikova L.F., Osadchaya T.S., Trubacheeva N.V., Pershina L.A. Breeding for resistance to stem rust of spring soft wheat in Western Siberia. *Vestnik Altayskogo Gosudarstvennogo Agrarnogo Universiteta = Bulletin of the Altai State Agrarian University*. 2017;7(153):5-12 (in Russian)]

Ahmar S., Gill R.A., Jung K.H., Faheem A., Qasim M.U., Mubeen M., Zhou W. Conventional and molecular techniques from simple breeding to speed breeding in crop plants: recent advances and future outlook. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(7):2590. DOI 10.3390/ijms21072590

Asad S., Fayyaz M., Munir A., Rattu A.U. Screening of wheat commercial varieties for resistance against powdery mildew (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici)* at Kaghan Valley, Pakistan. *Pak. J. Phytopathol*. 2014;26:7-13

Barkley A., Chumley F.G. A doubled haploid laboratory for Kansas wheat breeding: an economic analysis of biotechnology adoption. *Int. Food Agribus. Manag. Rev*. 2012;15(2):99-120

Belan I., Rosseeva L., Laikova L., Rosseev V., Pershina L., Trubacheeva N., Morgounov A., Zelenskiy Y. Utilization of new wheat genepool in breeding of spring bread wheat. In: Abstracts of Oral and Poster Presentations of 8th International Wheat Conference. St. Petersburg, 2010;69-70

Hao M., Zhang L., Ning S., Huang L., Yuan Z., Wu B., Yan Z., Dai S., Jiang B., Zheng Y., Liu D. The resurgence of introgression breeding, as exemplified in wheat improvement. *Front. Plant Sci.* 2020;11:252. DOI 10.3389/fpls.2020.00252

Hsam S.L.K., Zeller F.J. Breeding for powdery mildew resistance in common wheat (*Triticum aestivum* L.). In: The Powdery Mildews. A comprehensive treatise. Minnesota: APSpress, 2002;219-238

Morgounov A., Ablova I., Babayants O., Babayants L., Bespalova L., Khudokormov Zh., Litvinenko N., Shamanin V., Syukov V. Genetic pro-

tection of wheat from rusts and development of resistant varieties in Russia and Ukraine. *Euphytica*. 2011;179:297-311. DOI 10.1007/s10681-010-0326-5

Pershina L., Trubacheeva N., Badaeva E., Belan I., Rosseeva L. Study of androgenic plant families of alloplasmic introgression lines (*H. vulgare*)–*T. aestivum* and the use of sister DH lines in breeding. *Plants*. 2020;9(6):764-816. DOI 10.3390/plants9060764

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;26:297-311. DOI 10.1139/cjr48c-033

Servin B., Martin O.C., Mezard M., Hospital F. Toward a theory of marker-assisted pyramiding. *Genetics*. 2004;168:513-523. DOI 10.1534/genetics.103.023358

Singh N.K., Shepherd K.W., McIntosh R.A. Linkage mapping of genes for resistance to leaf, steam and stripe rust and ω-secalins on the short arm of rye chromosome 1R. *Theor. Appl. Genet*. 1990;80(5):609-616. DOI 10.1007/BF00224219

Slama-Ayed O., Bouhaouel I., Ayed S., De Buyser J., Picard E., Amara H.S. Efficiency of three haplomethods in durum wheat (*Triticum turgidum* subsp. *durum* Desf.): isolated microspore culture, gynogenesis and wheat × maize crosses. *Czech J. Genet. Plant Breed.* 2019;55:101-109. DOI 10.17221/188/2017-CJGPB

Srivastava P., Singh N.B. Accelerated wheat breeding: doubled haploids and rapid generation advance. In: Gosal S., Wani S. (Eds.) Biotechnologies of Crop Improvement. Vol. 1. Springer, 2018;437-461. DOI 10.1007/978-3-319-78283-6_13

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 08.07.2024. После доработки 19.08.2024. Принята к публикации 22.08.2024.

Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции
Letters to Vavilov Journal of Genetics and Breeding
2024 • 10 • 3 • 166-176

pismavavilov.ru
DOI 10.18699/letvjgb-2024-10-19

Оригинальное исследование

Динамика развития основных грибных болезней твердой пшеницы в условиях южной лесостепи Омской области

М.Г. Евдокимов ✉, Л.В. Мешкова, В.С. Юсов

Аннотация: В Западно-Сибирском регионе наиболее распространены грибные болезни твердой яровой пшеницы: *Puccinia triticina*, *P. graminis*, *Erisiphe graminis*, *Tilletia caries*, *Ustilago tritici*. Сравнительный анализ поражения проведен по сортам Алмаз, Омский рубин, Ангел, Омская янтарная. Выявлено некоторое преимущество сортов Ангел и Омская янтарная по устойчивости к бурой и стеблевой ржавчине, мучнистой росе, пыльной головне. Динамика поражения возбудителями болезней (бурой, стеблевой ржавчиной, мучнистой росой, твердой головней) представлена на примере сортов Алмаз за 1981–2022 гг. и Омский рубин за 1984–2022 гг. Динамика поражения возбудителем пыльной головни для этих же сортов представлена за 1981–2012 и 1984–2012 гг. соответственно. Прослеживаются тенденции увеличения поражения бурой и стеблевой ржавчиной, мучнистой росой и снижения – твердой головней. Выявлена отрицательная связь развития возбудителя бурой ржавчины с температурой июня и суммой активных температур. С осадками и гидротермическим коэффициентом (ГТК) отмечена положительная корреляция в июне только в первой декаде, отрицательная – с температурой первой декады июля и второй декады августа. Зависимость проявления стеблевой ржавчины от метеорологических факторов наблюдалась в основном в июле: положительная корреляция – с осадками, относительной влажностью воздуха и ГТК, отрицательная – с суммой эффективных температур. В августе связь с температурой воздуха и суммой температур становится положительной, а с относительной влажностью воздуха – отрицательной со второй декады. Поражение твердой головней определяется метеорологическими условиями в мае. Обнаружена отрицательная корреляция между степенью поражения и температурой воздуха и суммой активных температур, проявляющаяся в третьей декаде мая. По пыльной головне в мае (третья декада) отмечена положительная связь с температурой воздуха и отрицательная – с относительной влажностью. В июне связь с температурой отрицательная, особенно во второй декаде, и положительная – с относительной влажностью воздуха и ГТК. В первой декаде июля (стадия колошения) связь с температурой воздуха становится положительной, а с относительной влажностью воздуха – отрицательной. Мучнистая роса в сильной степени зависит в июне от осадков и относительной влажности воздуха. В июле отрицательная связь наблюдалась с температурой воздуха и суммой эффективных температур. В августе отмечена слабая положительная связь с осадками, ГТК и отрицательная – с суммой эффективных температур. Изменения климатических условий в южной лесостепи Омской области в некоторой степени повлияли на снижение развития твердой головни пшеницы и на рост поражения мучнистой росой, бурой и стеблевой ржавчиной, пыльной головней.

Ключевые слова: бурая ржавчина; стеблевая ржавчина; мучнистая роса; твердая головня; пыльная головня; поражение; температура воздуха; осадки; относительная влажность воздуха.
Для цитирования: Евдокимов М.Г., Мешкова Л.В., Юсов В.С. Динамика развития основных грибных болезней твердой пшеницы в условиях южной лесостепи Омской области. *Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2024;10(3):166-176. DOI 10.18699/letvjgb-2024-10-19

Original article

Dynamics of development of the main fungal diseases of durum wheat in the conditions of the southern forest-steppe of the Omsk region

M.G. Evdokimov ✉, L.V. Meshkova, V.S. Yusov

Abstract: In the West Siberian region, the most common diseases of durum spring wheat are: *Puccinia triticina*, *P. graminis*, *Erisiphe graminis*, *Tilletia caries*, *Ustilago tritici*. A comparative analysis of the lesion was carried out for the varieties Almaz, Omski rubin, Angel, Omskaya jantarnay. Some advantage of the varieties Angel, Omskaya jantarnay in terms of resistance to leaf, stem rust, powdery

Омский аграрный научный центр, Омск, Россия
Omsk Agrarian Scientific Center, Omsk, Russia
✉ misha-emg@rambler.ru
© Евдокимов М.Г., Мешкова Л.В., Юсов В.С., 2024

Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0

mildew, loose smut has been revealed. The dynamics of disease (leaf rust, stem rust, powdery mildew, bunt smut) damage is presented on the example of Almaz varieties for 1981–2022 and Omski rubin for 1984–2022; the dynamics of loose smut damage is presented for the same varieties for 1981–2012, and 1984–2012, respectively. At the same time, there is a clear tendency to increase the degree of damage for leaf and stem rust, powdery mildew, and a decrease for bunt smut. A negative relationship between the development of leaf rust and the June temperature and the sum of active temperatures was revealed. With precipitation and HTC, a positive correlation was noted in June only in the 1st decade, negative with the temperature of the 1st decade of July, 2nd decade of August. The dependence of stem rust on meteorological factors manifests itself mainly in July. The correlation is positive with precipitation, with relative humidity, with HTC and negative with the sum of effective temperatures. In August, the relationship with the air temperature and the sum of the temperatures becomes positive, and with the relative humidity of the air negative from the second decade. Bunt smut infestation is determined by meteorological conditions in May. There is negative correlation between the degree of damage and the air temperature and the sum of active temperatures; this dependence manifested itself in the 3rd decade of May. On the loose smut in May (3rd decade), there is a positive relationship with air temperature and a negative relationship with relative humidity. In June, the relationship with temperature is negative, especially in the 2nd decade, and positive with relative humidity and HTC. In the 1st decade of July (earing stage), the relationship with air temperature becomes positive and negative with relative humidity. Powdery mildew is strongly dependent on precipitation and relative humidity in June. In July, a negative relationship was observed with the air temperature and the sum of effective temperatures. In August, there was a weak positive relationship with precipitation, HTC and a negative relationship with the sum of effective temperatures. Changes in climatic conditions to some extent affected the decline in the development of bunt smut in durum wheat and the increase in damage by of powdery mildew, leaf and stem rust, loose smut.
Key words: leaf rust; stem rust; powdery mildew; bunt smut; loose smut; lesion; air temperature; precipitation; relative humidity.
For citation: Evdokimov M.G., Meshkova L.V., Yusov V.S. Dynamics of development of the main fungal diseases of durum wheat in the conditions of the southern forest-steppe of the Omsk region. *Pisma v Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Letters to Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2024;10(3):166-176. DOI 10.18699/letvjgb-2024-10-19 (in Russian)

Введение

Болезни и вредители – основные биотические факторы, ограничивающие рост урожайности зерновых культур в России и мире. В условиях Западной Сибири наибольшее распространение имеют следующие возбудители грибных заболеваний на пшенице: бурая и стеблевая ржавчины, мучнистая роса, твердая и пыльная головня (Орлова, Бехтольд, 2019; Юсов и др., 2022).

Возбудителем стеблевой ржавчины пшеницы является гриб (*Puccinia graminis* Pers. f. sp. *tritici* Eriks. & E. Henn.), возбудителем мучнистой росы – *Erisiphe graminis* f. sp. *tritici* É.J. Marchal (син. *Blumeria graminis* (DC) Speer f. sp. *tritici* É.J. Marchal). Твердая (обыкновенная) головня представлена двумя видами: *Tilletia caries* (DC) Tul. & C. Tul. и *T. foetida* J.G. Kühn (син. *Tilletia levis* J.G. Kühn). Симптомы болезни этих двух видов одинаковы, они различаются только по морфологии спор и по области распространения, с преобладанием *T. caries* (Василова и др., 2017; Койшибаев, 2018). Возбудителем пыльной головни является гриб *Ustilago tritici* (Pers.) Jens.

Недобор урожая пшеницы от этих болезней велик. Возбудитель бурой ржавчины поражает в основном листья растения, что приводит к потере урожая (вследствие снижения фотосинтетической способности листьев) до 20–30 % (Дерова и др., 2022). В годы эпифитотийного развития возбудителя бурой ржавчины потери урожая мягкой пшеницы составляют 30–50 % (Воронкова, 1980; Плотникова и др., 2018). Сильное поражение пшеницы возбудителем бурой ржавчины отрицательно сказывается на урожайности, качестве зерна и на выходе и всхожести семян (Мешкова, Россеева, 2016).

Более высокий урон урожаю может наносить возбудитель стеблевой ржавчины пшеницы. В условиях эпифитотийного развития этой болезни потери урожая мягкой пшеницы могут достигать 50–80 % и более (Дьяков и др., 1976; Койшибаев, 2018; Лапочкина и др., 2018).

Потери урожая во многом зависят от степени поражения различными болезнями и развития патогена на определенных фазах развития растений. По данным (Roelfs et al., 1992), 100 % поражение бурой ржавчиной в период выхода в трубку–колошения снижает урожай на 50 %, в период цветения – на 35 %, молочной спелости – на 20 %. По стеблевой ржавчине: в колошении – на 82 %, цветении – 80 %, молочной спелости – на 73 %. С.С. Санин с коллегами (2018) предложили шкалу определения потерь урожая от бурой ржавчины и мучнистой росы по степени поражения в период молочной спелости, с помощью которой можно заранее спрогнозировать уровень снижения урожайности.

В России возбудитель мучнистой росы распространен повсеместно и относится к эпифитотийно опасным болезням. Потери урожая пшеницы могут достигать 30–35 % (Simeone at al., 2020; Зеленева, 2021).

Возбудитель твердой головни – особо опасная болезнь, так как, наряду с потерями урожая до 30–40 % и более (Шишкин и др., 2015), при сильном поражении зерно становится вредным для употребления животными и человеком (Зеленева, 2021). Токсические алкалоиды головни нарушают обмен веществ, сердечную деятельность, функцию печени, почек.

Пыльная головня может привести к полной потере продуктивности колоса, поскольку еще до выхода из влагалища верхних листьев все органы колоса, за исключением стержня, превращаются в черную массу телиоспор. Недобор урожая, с учетом скрытых потерь, достигает 20–40 % (Харина, Амунова, 2020).

В настоящее время во многих регионах земного шара отмечается тенденция к изменению климата, которая может привести к глобальному потеплению (Бондаренко и др., 2018). В Западно-Сибирском регионе последние десятилетия также наблюдается постепенное повышение среднесуточных температур воздуха в вегетационный период (Шама-

нин и др., 2015; Паромов и др., 2017) и, особенно, в период колошения–созревания (Евдокимов и др., 2021). Различия дневных и ночных температур в это время очень велики, и в последние годы, по нашим наблюдениям, происходит увеличение количества дней с росами и туманами. Это в значительной мере способствует развитию листовых болезней. При этом надо иметь в виду, что развитие каждой болезни определяется специфическими климатическими условиями. Основные факторы, определяющие развитие ржавчины, – влажность и температура воздуха. Прорастание спор протекает при наличии капельно-жидкой влаги (роса, дождевые капли) и относительной влажности воздуха 60–70 %. Для развития бурой ржавчины оптимальная температура воздуха 15–25 °С, для стеблевой ржавчины – 18–28 °С (Койшибаев, 2018). Оптимальная температура воздуха для развития мучнистой росы 18–20 °С, относительная влажность 96–98 % (Кекало и др., 2017). Твердая головня хорошо развивается при относительно прохладной и влажной погоде. Благоприятные условия – температура 5–10 °С, относительная влажность почвы 40–60 % ПВ после посева пшеницы (Зеленева, 2021). Заражение пыльной головней происходит в период цветения. Повышенная влажность воздуха и температура 18–24 °С в этот период обусловливают высокую зараженность растений (Кривченко, Хохлова, 2008).

Вместе с тем известно, что климатические изменения оказывают влияние на видовой состав патогенов, характер течения болезней и их вредоносность (Рейтер, Леонтьев, 1972; Колесников и др., 2009; West et al., 2012; Левитин, 2016; Колесар и др., 2017). Кроме того, экспрессивность генов устойчивости (к мучнистой росе, бурой и стеблевой ржавчине) различается в разных условиях внешней среды (Сочалова, Пискарев, 2017). В связи с этим изучение характера влияния климатических изменений на развитие основных болезней яровой пшеницы имеет существенное значение для разработки многолетнего прогноза и стратегии селекции на устойчивость к биотическим факторам.

Цель данной работы – выявление динамики развития возбудителей бурой и стеблевой ржавчины, мучнистой росы, твердой и пыльной головни на сортах твердой пшеницы омской селекции в зависимости от метеорологических факторов южной лесостепи Омской области.

Материалы и методы

Исследования проведены в 1981–2022 гг. в условиях южной лесостепной зоны Омской области на посевах в стационаре лаборатории иммунитета растений СибНИИСХ (ныне Омский аграрный научный центр) на естественном инфекционном фоне по возбудителям бурой и стеблевой ржавчины, мучнистой росы (с сортами-ловушками Саратовская 29, Памяти Азиева). На искусственном фоне исследования выполнены по возбудителю твердой и пыльной головни соответственно.

Объектом изучения служили сорта твердой яровой пшеницы Алмаз, Омский рубин, Ангел, Омская янтарная. Более длительный срок испытывались Алмаз (1981–2022 гг.) и Омский рубин (1984–2022 гг.), поэтому динамика поражения болезнями показана по этим сортам. С 1985 г. для сравнения были добавлены сорта Ангел и Омская янтарная. Сорта оценивались в полевых условиях на устойчивость к бурой ржавчине (*P. triticina*), стеблевой ржавчине (*P. graminis* f. sp. *tritici*) и мучнистой росе (*E. graminis* f. sp. *tritici*), твердой (*T. caries*) и пыльной (*U. tritici*) головне.

Степень поражения листьев растений возбудителем бурой и стеблевой ржавчины (в %) оценивали по шкале, предложенной R.F. Peterson с коллегами (1948), мучнистой росой – по шкале Э.Э. Гешеле (1978). Интенсивность поражения твердой и пыльной головней определяли по методикам, предложенным А.И. Широковым, Б.Г. Рейтером (1981) и В.И. Кривченко, А.П. Хохловой (2008).

При анализе метеоэлементов использовали данные Омской ГМС (Агрометеорологический бюллетень, 1981–2020). В основу были взяты параметры осадков, среднесуточной температуры воздуха, относительной влажности воздуха по декадам и месяцам вегетационного периода.

Гидротермический коэффициент (ГТК) определяли по Т.Т. Селянинову (1928).

Расчеты линейной парной корреляции проводили в пакете программ Microsoft Office Excel 2019.

Результаты

Во время проведения исследований погодные условия значительно варьировали по годам и не всегда были благоприятными для роста и развития твердой яровой пшеницы и грибных инфекций. Отмечены отклонения в количестве осадков, выпавших в период вегетации растений, и температурном режиме.

По значениям ГТК за вегетационный период очень засушливыми (ГТК 0.40–0.64) были 1984, 1988, 1998, 1999, 2004, 2010, 2012 и 2014 гг., засушливыми (ГТК 0.70–0.97) – 1981, 1983, 1985, 1992, 1997, 2000, 2008, 2017 и 2019 гг. Достаточно увлажненными были 1982, 1986, 1987, 1989–1991, 1995, 1996, 2001, 2002, 2005, 2006, 2011, 2013, 2015, 2016, 2018, 2020 гг., сильно увлажненными (ГТК 1.78–2.67) – 1993, 1994, 2003, 2007 и 2009 гг. (рис. 1).

Урожайность зерна сорта твердой пшеницы Алмаз по чистому пару в годы с высоким значением ГТК была намного выше средней многолетней, значение которой составляло 25.4 ц/га, за исключением 1991, 1994 и 2003 гг. В то же время в отдельные годы (1990, 1999, 2004) при низких показателях ГТК урожайность была высокой (33.1–39.5 ц/га). Это свидетельствует о том, что на уровень урожайности влияют и другие климатические факторы, например кратковременные воздушные засухи, распределение осадков в критические периоды развития растений и др. Определенное влияние оказывают и биотические факторы, в том числе поражение грибными болезнями.

Для того чтобы проследить динамику поражения растений, необходимо иметь четкую картину изменений метеоэлементов в условиях южной лесостепи Омской области за время исследований. Сравнение средних показателей температуры, относительной влажности воздуха и количества осадков за 1981–2000 и 2001–2020 гг. показало, что среднесуточная температура воздуха в мае повысилась на 0.8 °С, в июне – на 0.2 °С, в августе – на 0.3 °С, а в июле наблюдалось снижение на 0.6 °С (рис. 2). Количество осадков в мае понизилось с 36.7 до 31.8 мм (на 4.9 мм), в июне повысилось на

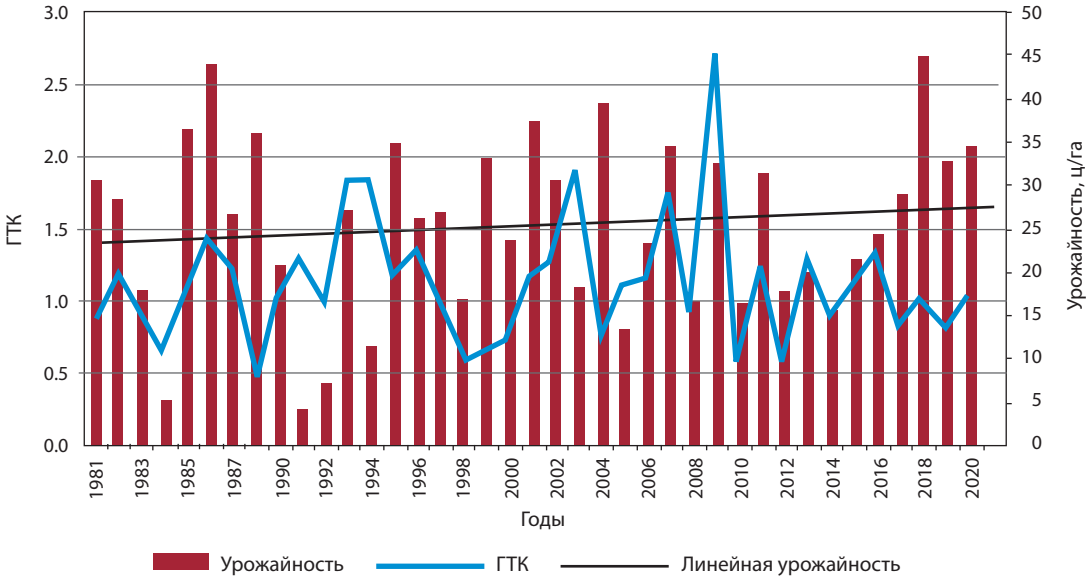


Рис. 1. Гидротермический коэффициент (ГТК) за вегетационный период и урожайность сорта Алмаз, 1981–2020 гг.

Fig. 1. Hydrothermal coefficient (HTC) for the growing season and yield of the Almaz variety, 1981–2020

18.6 мм; в июле и августе увеличение количества осадков было незначительным – 0.7 и 2.1 мм соответственно (рис. 3).

Относительная влажность воздуха в 2001–2020 гг. превысила показатели 1981–2000 гг.: в мае – на 2.6 %, июне – 4.4 %, июле – 2.1 %, августе – на 1.1 % (рис. 4). ГТК в мае понизился с 1.13 до 0.93, в остальные месяцы вегетационного периода наблюдалось его повышение: в июне – с 0.82 до 1.11, июле – с 1.10 до 1.25, в августе – с 1.03 до 1.07 (рис. 5).

Динамика поражения бурой и стеблевой ржавчиной, твердой головней и мучнистой росой представлена на примере сортов Алмаз (за 1981–2022 гг.) и Омский рубин (1984–2022), пыльной головней – приведена по сортам Алмаз (1981–2012) и Омский рубин (1984–2012).

По бурой ржавчине в период с 1981 по 2000 г. поражение сорта Алмаз было минимальным, в последующие годы оно постепенно повышалось и в отдельные годы доходило до 80 % (рис. 6).

Стеблевая ржавчина проявлялась в 1981–1995 гг., в отдельные годы (1983, 1984, 1988, 1994) поражение заболеванием достигало 100 %. В 1996–2010 гг. поражения практически не наблюдалось, а в последующем, особенно с 2015 г., оно ежегодно составляло 80–100 %.

Твердая головня с 1981 по 1995 г. проявлялась от 0 до 40 %, в 1996–2005 гг. была ниже 10 %, позднее – преимущественно ниже 10 %, с поражением до 30–50 % в 2007 и 2014 гг.

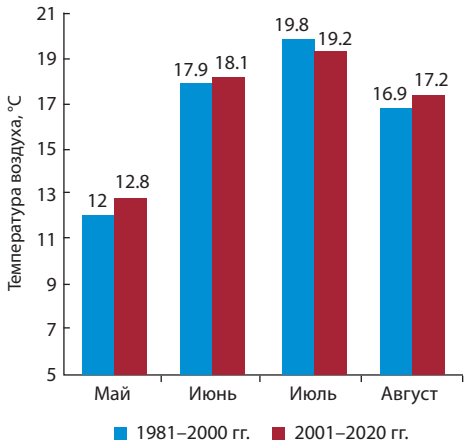


Рис. 2. Среднесуточная температура воздуха в периоды 1981–2000 и 2001–2020 гг.

Fig. 2. Average daily air temperature in the periods 1981–2000 and 2001–2020

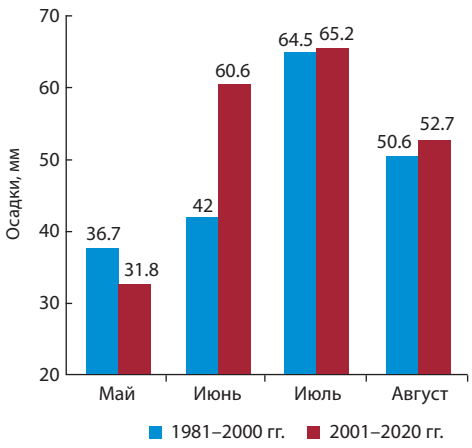


Рис. 3. Осадки в периоды 1981–2000 и 2001–2020 гг.

Fig. 3. Precipitation in the periods 1981–2000 and 2001–2020

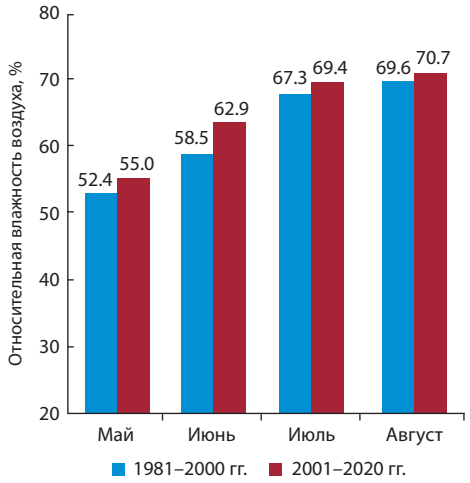


Рис. 4. Относительная влажность воздуха в периоды 1981–2000 и 2001–2020 гг.

Fig. 4. Relative humidity in the periods 1981–2000 and 2001–2020

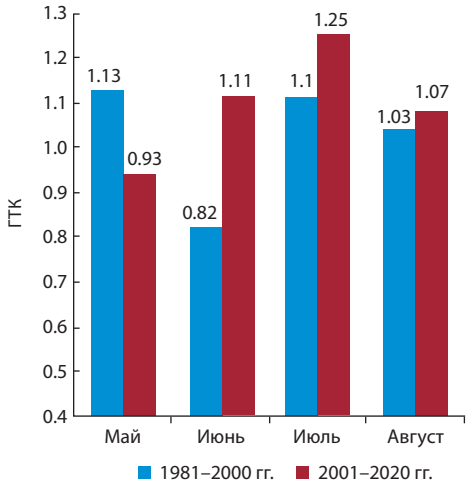
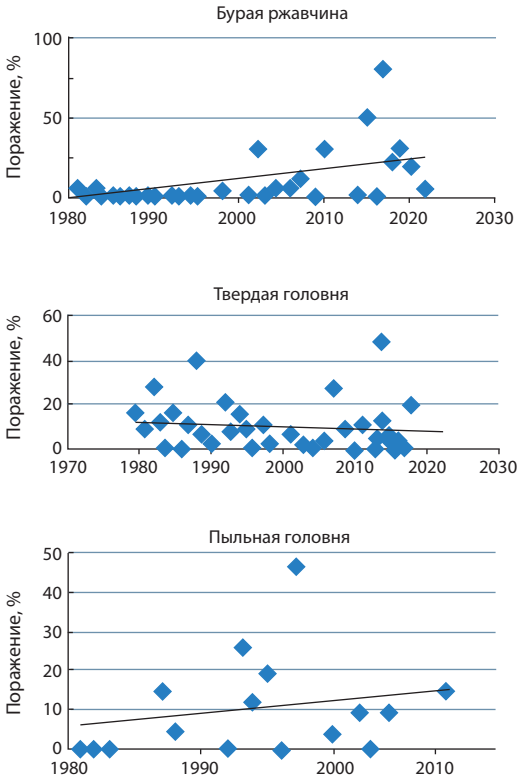


Рис. 5. Гидротермический коэффициент (ГТК) в периоды 1981–2000 и 2001–2020 гг.

Fig. 5. Hydrothermal coefficient (HTC) in the periods 1981–2000 and 2001–2020



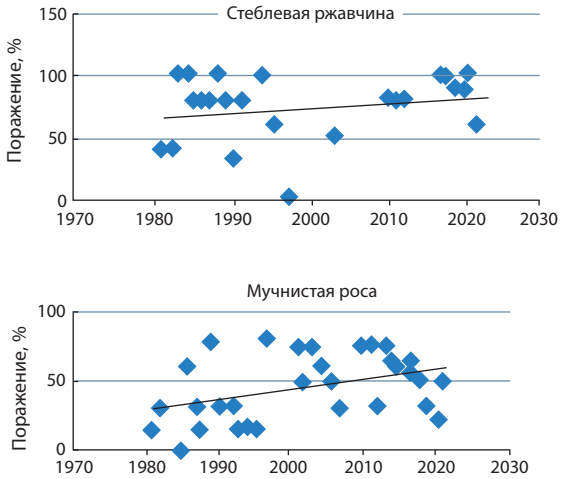


Рис. 6. Динамика поражения сорта Алмаз возбудителями грибных болезней

Fig. 6. Dynamics of damage to the Almaz variety by pathogens of fungal diseases

По мучнистой росе до 1995 г. степень поражения составляла менее 30 %, в дальнейшем возросла до 50–80 %, за исключением четырех лет (2007, 2012, 2019, 2020).

При этом четко прослеживаются тенденции увеличения степени поражения по бурой и стеблевой ржавчине, мучнистой росе, пыльной головне и снижения – по твердой головне (см. рис. 6).

Аналогичная картина поражения болезнями отмечена и для сорта Омский рубин: четко прослеживаются тенденции увеличения степени поражения по бурой и стеблевой ржавчине, мучнистой росе, пыльной головне и снижения – по твердой головне (рис. 7).

Сравнительная оценка поражения сортов Алмаз, Омский рубин, Ангел, Омская янтарная за 1985–2022 гг. листовыми и колосовыми болезнями представлена в табл. 1. Поражение бурой ржавчиной в среднем за этот период было ниже у сортов Омская янтарная и Ангел (8.8–9.0 %), чем у Омского рубина и Алмаза (15.5–16.8 %), при максимальном поражении 80–90 %. По стеблевой ржавчине средний уровень поражения был высоким у всех сортов: от 50.6 % у Омской

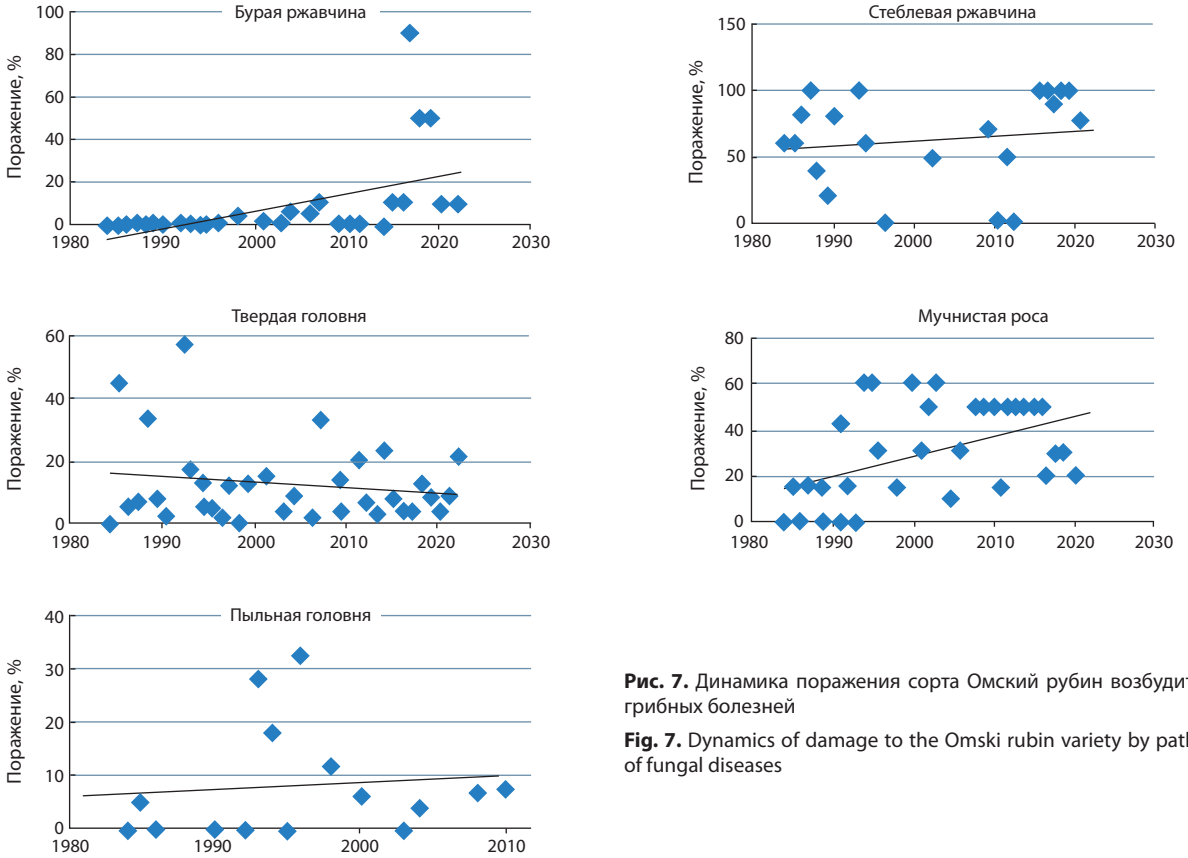


Рис. 7. Динамика поражения сорта Омский рубин возбудителями грибных болезней

Fig. 7. Dynamics of damage to the Omski rubin variety by pathogens of fungal diseases

янтарной до 75.5 % у Алмаза. Максимальное значение у всех сортов достигало 100 %. Поражение пыльной головней у сорта Омская янтарная проявилось на уровне 7.4 %, у остальных сортов – 10.5–13.8 %. Степень поражения твердой головней была близкой у сортов Алмаз, Омский рубин и Ангел (7.9–9.6 %); у сорта Омская янтарная она составила 16.6 % с максимальным значением 49.1 %. Средняя степень поражения мучнистой росой варьировала от 35.6 % (Омская янтарная) до 54.5 % (Алмаз) при максимальной величине 60–80 %. Коэффициенты вариации по всем болезням у сортов очень высокие, особенно по бурой ржавчине.

Обсуждение

Урожайность сорта Алмаз очень сильно варьирует по годам за период наблюдений (см. рис. 1). Во многих случаях отмечен низкий уровень урожайности в годы с высоким значением ГТК. Корреляционная связь с ГТК за период вегетации отсутствует ($r = 0.01$) и проявляется только с ГТК первой декады июля ($r = 0.31$). Ранее нами было показана зависимость урожайности от осадков первой декады июля и отмечено, что в большей мере она зависит от относительной влажности воздуха (Евдокимов и др., 2020).

Сравнительная оценка по степени поражения болезнями (см. табл. 1) показала, что сорта Алмаз и Омский рубин существенно не различаются. Это подтверждает адекватность графического сопоставления их динамики. Сорта последующей селекции имеют некоторое преимущество: Ангел и Омская янтарная – по бурой и стеблевой ржавчине, мучнистой росе, Омская янтарная – по пыльной головне. Вариабельность поражения у всех сортов к изученным болезням была очень высокой.

Расчеты коэффициентов корреляции на основе многолетних наблюдений по сортам Алмаз, Омский рубин, Ангел, Омская янтарная не выявили существенных связей развития бурой ржавчины с метеоусловиями, поскольку в период с 1981 по 2000 г. поражения практически не было, хотя на стандарте восприимчивости (сорт мягкой яровой пшеницы Саратовская 29) развитие болезни проявлялось. Это объясняется тем, что твердая пшеница более устойчива к данной болезни. Видовой особенностью большинства сортов и селекционных линий твердой пшеницы (как озимой, так и яровой) является их устойчивость к бурой ржавчине, что подтверждается как более в ранних (Широков и др., 1977), так и в более поздних сообщениях (Самофалова и др., 2018).

С 2001 г. во всех регионах России, где возделываются злаковые культуры (Гультяева, 2018), на всей территории Западной Сибири (Мешкова, Россеева, 2016), а также за ее пределами наблюдалось возрастание в разной мере степени поражения вследствие изменения популяционного состава и появления более агрессивных биотипов. С 1998 по 2009 г. отмечено сильное изменение популяции бурой ржавчины, поражающей листовой аппарат твердой пшеницы во Франции (Goyeau et al., 2012).

И только в годы постепенного повышения поражения сортов твердой пшеницы бурой ржавчиной была выявлена связь с температурой июня ($r = -0.471$) и суммой активных температур ($r = -0.474$). С осадками и ГТК отмечена

Таблица 1. Средние значения и вариабельность поражения сортов твердой пшеницы омской селекции грибными болезнями в 1985–2022 гг.
Table 1. Mean values and variability of fungal diseases in durum wheat varieties in 1985–2022

Заболевание	Алмаз	Омский рубин	Ангел	Омская янтарная
Среднее поражение, %				
Бурая ржавчина	16.80	15.53	9.03	8.83
Стеблевая ржавчина	75.45	66.67	57.37	50.55
Пыльная головня*	12.57	10.45	13.78	7.35
Твердая головня	7.92	9.57	8.99	16.57
Мучнистая роса	54.47	39.55	37.52	35.60
Лимиты, %				
Бурая ржавчина	0–80	0–90	0–80	0–60
Стеблевая ржавчина	0–100	0–100	0–100	0–100
Пыльная головня*	0–46.2	0–32.5	0–29.5	0–39.5
Твердая головня	0–48.3	0–32.7	0–31.7	0–49.1
Мучнистая роса	15–80	0–60	5–60	0–75
Стандартное отклонение				
Бурая ржавчина	22.04	26.34	18.89	15.82
Стеблевая ржавчина	29.79	36.51	44.15	29.95
Пыльная головня*	13.29	11.23	8.62	10.10
Твердая головня	11.51	7.92	7.97	14.27
Мучнистая роса	20.61	18.32	18.86	18.45
Коэффициент вариации, %				
Бурая ржавчина	131.2	169.6	209.3	179.0
Стеблевая ржавчина	39.5	54.8	77.0	59.2
Пыльная головня*	105.7	107.5	62.6	137.4
Твердая головня	145.4	82.7	88.6	86.1
Мучнистая роса	37.8	46.3	50.3	51.8

* Пыльная головня 1985–2012 гг.

положительная корреляция только в первой декаде июня ($r = 0.493$ и $r = 0.393$), отрицательная ($r = –0.320$ и $r = –0.391$) – с температурой первой декады июля и второй декады августа соответственно (табл. 2). Б.Г. Рейтером, С.И. Леонтьевым (1972) ранее было показано, что в условиях Омска за 1951–1970 гг. существенная положительная связь проявлялась между развитием бурой ржавчины на мягкой пшенице и ГТК июня, июля ($r = 0.513$ и $r = 0.500$), суммой осадков за вегетационный период ($r = 0.659$) и тесная отрицательная – с суммой температур в июле ($r = –0.629$). Ослабление связи в июле в последние годы, в сравнении с этим периодом, вызвано изменением погодных условий: наблюдается снижение температуры на 0.6 °C, повышение ГТК с 1.10 до 1.25.

Развитие стеблевой ржавчины на твердой пшенице было отмечено с 1981 по 1995 г., в последующем (1996–2010) она практически не фиксировалась. С 2010 г., особенно с 2016, наблюдалось поражение растений (см. рис. 6). Такая динамика связана, вероятно, с изменением расового состава (Рсалиев А.С., Рсалиев Ш.С., 2018; Сколотнева и др., 2020). Кроме того, оказывают влияние климатические изменения. Зависимость проявления стеблевой ржавчины от метеорологических факторов отмечается в основном в июле. Корреляция положительная – с осадками ($r = 0.356$), относительной влажностью воздуха ($r = 0.471$), ГТК ($r = 0.451$), отрицательная – с суммой эффективных температур ($r = –0.605$). В августе связь с температурой воздуха и суммой температур становится положительной ($r = 0.486$ и $r = 0.309$), а с относительной влажностью воздуха – отрицательной со второй декады ($r = – 0.430$).

Поражение твердой головней определяется метеорологическими условиями в мае. Коэффициент корреляции между степенью поражения и температурой воздуха составил –0.366, с суммой активных температур – –0.351. В основном эта корреляция проявляется в третьей декаде мая и в зависимости от сортов колеблется от –0.333 до –0.458. Динамика развития болезни с тенденцией понижения степени поражения растений (см. рис. 2), по-видимому, обусловлена повышением среднесуточной температуры воздуха в мае

Таблица 2. Корреляционная связь между поражением грибными болезнями и метеорологическими факторами
Table 2. Correlation between fungal diseases and meteorological factors

Месяц	Фактор	Коэффициенты корреляции*				
		Ржавчина		Головня		Мучнистая роса
		бурая	стеблевая	твердая	пыльная	
Май	Температура			–0.366	0.392	
	Осадки					
	Относительная влажность				–0.384	
	Сумма эффективных температур			–0.351		
	ГТК					
Июнь	Температура	–0.471			–0.691 (2-я декада)	
	Осадки	0.493 (1-я декада)				0.420
	Относительная влажность				0.421	0.402
	Сумма эффективных температур	–0.474				
	ГТК	0.393 (1-я декада)			0.320	
Июль	Температура	–0.320 (1-я декада)			0.562 (1-я декада)	–0.477
	Осадки		0.356			
	Относительная влажность		0.471		–0.567	
	Сумма эффективных температур		–0.605			–0.433
	ГТК		0.451			
Август	Температура	–0.391 (2-я декада)	0.486			
	Осадки					0.276
	Относительная влажность		–0.430 (2-я декада)			
	Сумма эффективных температур		0.309			–0.425
	ГТК					0.295

* Критическое значение коэффициента корреляции 0.288.

на 0.8 °С, поскольку основным фактором в развитии твердой головни является температура почвы на глубине 5 см в период посева–прорастания семян (Василова и др., 2017).

Проявление пыльной головни в большей мере зависит от погодных условий. Это связано с тем, что болезнь имеет двухгодовой цикл развития. Первый этап проходит от момента попадания телейтоспор в цветок до проникновения мицелия в зародыш семени, который длится в течение трех недель (Дружин, Крупнов, 2008). Дальнейшее развитие гриба происходит на следующий год при прорастании зерновки в почве и связано с ростом растения до колошения. В мае (третья декада) проявляется положительная связь с температурой воздуха (r = 0.392) и отрицательная – с относительной влажностью воздуха (r = –0.384). В июне связь с температурой отрицательная, особенно во второй декаде (–0.691), и положительная – с относительной влажностью воздуха (r = 0.421) и ГТК (r = 0.320). В первой декаде июля (стадия выколашивания) связь с температурой воздуха становится положительной (0.562), а с относительной влажностью воздуха – отрицательной (–0.567).

Развитие мучнистой росы в сильной степени зависит в июне от осадков (r = 0.420) и относительной влажности воздуха (r = 0.402). В июле наблюдалась отрицательная связь с температурой воздуха (r = –0.477) и суммой эффективных температур (r = –0.433). В августе отмечена слабая положительная связь с осадками (r = 0.276), ГТК (r = 0.295) и отрицательная – с суммой эффективных температур (r = –0.425).

Таким образом, прослеживается различная зависимость изученных болезней твердой пшеницы от метеоусловий, т. е. для каждой болезни требуются свои условия для оптимального развития. Это подтверждает более ранее данные, приведенные по мягкой пшенице (Широков и др., 1977; Койшибаев, 2002; Кривченко, Хохлова, 2008; Кекало и др., 2017; Зеленева, 2021). Коэффициенты корреляции между развитием изученных болезней свидетельствуют о том, что проявляется отрицательная связь между бурой ржавчиной и твердой головней, стеблевой ржавчиной и твердой и пыльной головней, мучнистой росой и пыльной и твердой головней (рис. 8). В то же время прослеживается положительная связь между бурой и стеблевой ржавчиной,

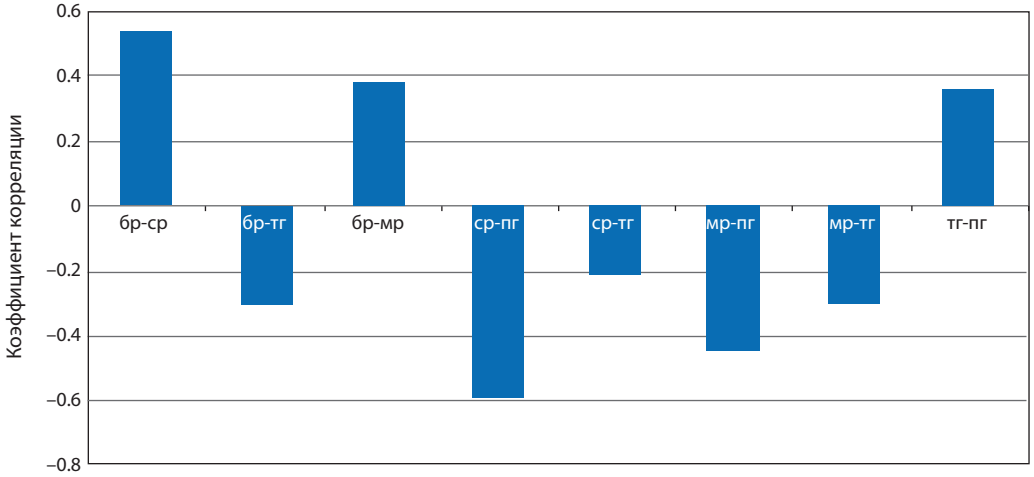


Рис. 8. Коэффициенты корреляции между болезнями по степени поражения.
Бр – бурая ржавчина, ср – стеблевая ржавчина, пг – пыльная головня, тг – твердая головня, мр – мучнистая роса
Fig. 8. Correlation coefficients between diseases by the degree of damage

бурой ржавчиной и мучнистой росой, твердой и пыльной головней. Эта информация имеет значение для селекции при создании комплексно устойчивых сортов, поскольку количество сортов твердой пшеницы с комплексной устойчивостью к ржавчинным и головневым болезням довольно ограничено (Юсов и др., 2022).

Изменения климатических условий в некоторой степени повлияли на снижение развития на твердой пшенице твердой головни; произошел сдвиг зависимости развития стеблевой ржавчины с июля на июнь. Наряду с эволюцией расового состава возбудителей, отмечено влияние климата на рост поражения мучнистой росой, бурой ржавчиной, пыльной головней. Эти изменения носят региональный характер; например, проведенный анализ агроклиматических условий в Предкамье свидетельствует об устойчивой тенденции увеличения засушливости в мае и июне, что способствует росту поражения растений септориозом листьев, корневыми гнилями и болезнями колоса. Для бурой листовой ржавчины и мучнистой росы отмечена тенденция стабильного снижения поражения (Колесар и др., 2017).

Заключение

Проведенный анализ метеорологических факторов в условиях лесостепи Омской области за 1981–2020 гг. показал, что в этот период произошло повышение среднесуточной температуры воздуха в мае на 0.8 °С, относительная влажность воздуха увеличилась на 2.6 %, но с понижением количества осадков на 4.9 мм. В июне наблюдалось превышение по всем параметрам – соответственно на 0.2 °С, 4.4 % и 18.6 мм. В июле зафиксировано снижение температуры воздуха на 0.6 °С, влажность воздуха стала на 2.6 % выше. В августе температура воздуха увеличилась на 0.3 °С, а влажность – на 1.1 %. Значение ГТК в мае понизилось с 1.13 до 0.93, в июне возросло с 0.82 до 1.11, июле – с 1.10 до 1.25, в августе не изменилось.

Изменения степени поражения были следующими: наблюдалась тенденция увеличения инфицирования возбудителем бурой и стеблевой ржавчины, пыльной головней и понижения по возбудителю твердой головни.

При этом отмечена зависимость степени поражения болезнями от метеорологических элементов. На проявление листостебельных болезней оказывают положительное влияние осадки: бурой ржавчины и мучнистой росы – в июне, стеблевой ржавчины – в июле и августе. Отрицательное влияние оказывает температура воздуха: в июне – на бурую ржавчину, в июле – на возбудителя бурой ржавчины и мучнистой росы, во второй декаде августа – на бурую ржавчину. Сумма эффективных температур июля связана со стеблевой ржавчиной и мучнистой росой.

Влияние погодных условий на головневые болезни сильно различается. По твердой головне отмечена только отрицательная корреляция со среднесуточной температурой и суммой эффективных температур мая. Поражение пыльной головней определяется положительной связью с температурой воздуха в третьей декаде мая, относительной влажностью в первой декаде июня и с температурой первой декады июля. Отрицательная связь наблюдается с относительной влажностью мая и июля, температурой второй декады июня.

Изменения климатических условий повлияли на снижение развития возбудителя твердой головни, а также на степень поражения стеблевой ржавчиной, мучнистой росой, пыльной головней в сторону увеличения. Произошел сдвиг зависимости от температуры воздуха и осадков с июля на июнь бурой ржавчины.

Список литературы / References

Агрометеорологический бюллетень. Омск: Омский ЦГМС, 1981–2020 гг.
[Agrometeorological Bulletin. Omsk: Omsk CGMS, 1981–2020 (in Russian)]

Бондаренко Л.В., Маслова О.В., Белкина А.В., Сухарева К.В. Глобальное изменение климата и его последствия. *Вестн. Рос. экон. ун-та им. Г.В. Плеханова*. 2018;2:84-93
[Bondarenko L.V., Maslova O.V., Belkina A.V., Sukhareva K.V. Global climate change and its consequences. *Vestnik Rossijskogo Ekonomi-*

cheskogo Universiteta Imeni G.V. Plekhanova = Vestnik of the Plekhanov Russian University of Economics. 2018;2:84-93 (in Russian)]

Василова Н.З., Асхадуллин Д.Ф., Асхадуллин Д.Ф., Зайцева Т.В., Багавиева Э.З., Тазутдинова М.Р., Хусаинова И.И., Насихова Г.Р. Восприимчивость яровой пшеницы к татарской популяции твердой головни. *Зерн. хоз-во России*. 2017;5(53):8-11
[Vasilova N.Z., Askhadullin D.F., Askhadullin D.F., Zaytseva T.V., Bagavieva E.Z., Tazutdinova M.R., Khusainova I.I., Nasikhova G.R. The susceptibility of spring soft wheat to smut of Tatarstan origin. *Zernovoe Khozjaistvo Rossii = Grain Economy of Russia*. 2017;5(53):8-11 (in Russian)]

Воронкова А.А. Генетико-иммунологические основы селекции пшеницы на устойчивость к ржавчине. М.: Колос, 1980
[Voronkova A.A. Genetic-immunological Foundations of Wheat Breeding for Rust Resistance. Moscow: Kolos Publ., 1980 (in Russian)]

Гешеле Э.Э. Основы фитопатологической оценки в селекции растений. М.: Колос, 1978
[Geshele E.E. Fundamentals of Phytopathological Assessment in Plant Breeding. Moscow: Kolos Publ., 1978 (in Russian)]

Гультяева Е.И. Генетическая структура популяций *Puccinia triticina* в России и ее изменчивость под влиянием растения-хозяина: Дис. … д-ра биол. наук. СПб., 2018
[Gultyaeva E.I. Genetic Structure of *Puccinia triticina* Populations in Russia and its Variability under the Influence of the Host Plant. Diss. Dr. Biol. Sciences. St. Petersburg, 2018 (in Russian)]

Дерова Т.Г., Шишкин Н.В., Кононенко О.С., Самофалова Н.Е. Устойчивость сортов озимой твердой пшеницы к бурой ржавчине (*Puccinia triticina*) и мучнистой росе (*Blumeria graminis*) в Аграрном научном центре «Донской». *Зерн. хоз-во России*. 2022;14(2):89-94. DOI 10.31367/2079-8725-2022-80-2-89-94
[Derova T.G., Shishkin N.V., Kononenko O.S., Samofalova N.E. Brown rust (*Puccinia triticina*) and powdery mildew (*Blumeria graminis*) resistance of the winter durum wheat varieties at ARC "Donskoy". *Zernovoe Khozjaistvo Rossii = Grain Economy of Russia*. 2022;14(2): 89-94. DOI 10.31367/2079-8725-2022-80-2-89-94 (in Russian)]

Дружин А.Е., Крупнов В.Л. Пшеница и пыльная головня. Саратов: Изд-во Сарат. ун-та, 2008
[Druzhin A.E., Krupnov V.L. Wheat and Dust Smut. Saratov: Saratov University Publ., 2008 (in Russian)]

Дьяков Ю.Т., Семенкова И.Г., Успенская Г.Д. Общая фитопатология с основами иммунитета. М.: Колос, 1976
[Dyakov Yu.T., Semenkova I.G., Uspenskaya G.D. General Phytopathology with the Basics of Immunity. Moscow: Kolos Publ., 1976 (in Russian)]

Евдокимов М.Г., Юсов В.С., Пахотина И.В. Зависимость урожайности и качества зерна твердой яровой пшеницы от метеорологических факторов в южной лесостепи Западной Сибири *Зерн. хоз-во России*. 2020;5(71):26-31. DOI 10.31367/2079-8725-2020-71-5-26-31
[Evdokimov M.G., Yusov V.S., Pakhotina I.V. Correlation between productivity and grain quality of spring durum wheat and meteorological factors in the southern forest-steppe of the Western Siberia. *Zernovoe Khozjaistvo Rossii = Grain Economy of Russia*. 2020;5(71):26-31. DOI 10.31367/2079-8725-2020-71-5-26-31 (in Russian)]

Евдокимов М.Г., Юсов В.С., Пахотина И.В. Основные тенденции урожайности и качества зерна твердой яровой пшеницы в условиях южной лесостепи Западной Сибири. *Вестн. КрасГАУ*. 2021;4:33-41
[Evdokimov M.G., Yusov V.S., Pakhotina I.V. Main trends in the yield and quality of durum spring wheat grain in the conditions of the southern forest-steppe of Western Siberia. *Vestnik KrasGAU = Bulletin of the Krasnoyarsk State Agrarian University*. 2021;4:33-41 (in Russian)]

Зеленева Ю.В. Выявление источников и доноров устойчивости к вредоносным болезням пшеницы в условиях Центрально-Черноземного региона. Тамбов: Принт-Сервис, 2021
[Zeleneva Y.V. Identification of Sources and Donors of Resistance to Damage Diseases of Wheat in the Conditions of the Central Black Earth Region. Tambov: Print-Service Publ., 2021 (in Russian)]

Кекало А.Ю., Немченко В.В., Заргарян Н.Ю., Цыпышева М.Ю. Защита зерновых культур от болезней. Куртамыш: Куртамышская тип., 2017
[Kekalo A.Yu., Nemchenko V.V., Zargaryan N.Yu., Tsypysheva M.Y. Protection of Grain Crops from Diseases. Kurtamysh: Kurtamyshskaya Tipografiya, 2017 (in Russian)]

Койшибаев М. Болезни зерновых культур. Алматы: Бастау, 2002
[Koishibaev M. Diseases of Grain Crops. Almaty: Bastau Publ., 2002 (in Russian)]

Койшибаев М. Болезни пшеницы. Анкара, 2018
[Koishibaev M. Diseases of Wheat. Ankara, 2018 (in Russian)]

Колесар В.А., Зиганшин А.А., Сафин Р.И. Оценка влияния агроклиматических изменений на развитие болезней яровой пшеницы в Предкамье Республики Татарстан. *Зерн. хоз-во России*. 2017;2(50): 45-47
[Kolesar V.A., Ziganshin A.A., Safin R.I. The assessment of the effect of agricultural and climate changes on the spread of spring wheat diseases in the Predkamie area of the Republic of Tatarstan. *Zernovoe Khozjaistvo Rossii = Grain Economy of Russia*. 2017;2(50):45-47 (in Russian)]

Колесников Л.Е., Власова Э.А., Колесникова Ю.Р. Влияние природно-климатических факторов на динамику патогенеза возбудителей болезней пшеницы. *Докл. Рос. акад. с.-х. наук*. 2009;2:19-22
[Kolesnikov L.E., Vlasova E.A., Kolesnikova Yu.R. Effect of natural climatic factors on the dynamics of pathogenesis of wheat disease pathogens. *Russian Agricultural Sciences*. 2009;35(2):90-93. DOI 10.3103/S1068367409020074]

Кривченко В.И., Хохлова А.П. Головнёвые болезни зерновых культур. В: Изучение генетических ресурсов зерновых культур по устойчивости к вредным организмам. М.: Россельхозакадемия, 2008;32-86
[Krivchenko V.I., Khokhlova A.P. Smut diseases of grain crops. In: Study of Genetic Resources of Cereal Crops for Resistance to Harmful Organisms. Moscow: Rosselkhozakademiya Publ., 2008;32-86 (in Russian)]

Лапочкина И.Ф., Баранова О.А., Гайнуллин Н.Р., Волкова Г.В., Гладкова Е.В., Ковалева Е.О., Осипова А.В. Создание линий озимой пшеницы с несколькими генами устойчивости к *Puccinia graminis* Pers. f. sp. *tritici* для использования в селекционных программах России. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2018;22(6): 676-684. DOI 10.18699/VJ18.410
[Lapochkina I.F., Baranova O.A., Gainullin N.R., Volkova G.V., Gladkova E.V., Kovaleva E.O., Osipova A.V. The development of winter wheat lines with several genes for resistance to *Puccinia graminis* Pers. f. sp. *tritici* for use in breeding programs in Russia. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2018;22(6):676-684. DOI 10.18699/VJ18.410 (in Russian)]

Левитин М.М. Распространение болезней растений в условиях глобального изменения климата. *С.-х. науки и агропром. комплекс на рубеже веков*. 2016;13:97-101
[Levitin M.M. Distribution of plant diseases in the context of global climate change. *Sel'skokhozyaystvennyye Nauki i Agropromyshlennyy Kompleks na Rubezhe Vekov*. 2016;13:97-101 (in Russian)]

Мешкова Л.В., Россеева Л.П. Физиологическая специализация возбудителя бурой ржавчины пшеницы в Омской области в 2014 году. *Успехи соврем. науки*. 2016;3(10):116-118
[Meshkova L.V., Rosseeva L.P. Physiological specialization of pathogen brown rust on wheat in Omsk region in 2014. *Uspekhi Sovremennoj Nauki = Advances in Current Science*. 2016;3(10):116-118 (in Russian)]

Орлова Е.А., Бехтольд Н.П. Характеристика генофонда яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) по устойчивости к пыльной головне в условиях лесостепи Западной Сибири. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2019;23(5):551-558. DOI 10.18699/VJ19.524
[Orlova E.A., Bekhtold N.P. Characteristics of the gene pool of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) for resistance to loose smut in the forest-steppe of Western Siberia. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2019;23(5):551-558. DOI 10.18699/VJ19.524 (in Russian)]

Паромов В.В., Земцов В.А., Копысов С.Г. Климат Западной Сибири в фазу замедления потепления (1986–2015 гг.) и прогнозирование гидроклиматических ресурсов на 2021–2030 гг. *Изв. Том. политехн. ун-та. Инжиниринг ресурсов*. 2017;328(1):62-74
[Paromov V.V., Zemtsov V.A., Kopysov S.G. Climate of Western Siberia in the phase of slowing down warming (1986–2015) and forecasting of hydroclimatic resources for 2021–2030. *Izvestiya Tomskogo Politekhnicheskogo Universiteta. Inzhiniring Resursov = Proceedings of*

Tomsk Polytechnic University. Resource Engineering. 2017;328(1):62-74 (in Russian)]

Плотникова Л.Я., Мешкова Л.В., Гультяева Е.И., Митрофанова О.П., Лапочкина И.Ф. Тенденция преодоления устойчивости к бурой ржавчине интрогрессивных линий мягкой пшеницы с генетическим материалом *Aegilops speltoides* Tausch. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2018;22(5):560-567. DOI 10.18699/VJ18.395

[Plotnikova L.Ya., Meshkova L.V., Gultyaeva E.I., Mitrofanova O.P., Lapochkina I.F. A tendency towards leaf rust resistance decrease in common wheat introgression lines with genetic material from *Aegilops speltoides* Tausch. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2018;22(5):560-567. DOI 10.18699/VJ18.395 (in Russian)]

Рейтер Б.Г., Леонтьев С.И. Распространение бурой ржавчины (*Puccinia triticina* Erikss) и ее связь с элементами климата зоны. В: Полевые культуры. Науч. труды Омского ордена Ленина с.-х. института им. С. Кирова. 1972;100:110-115

[Reiter B.G., Leontiev S.I. Distribution of leaf rust (*Puccinia triticina* Erikss) and its relation to zone climate elements. In: Field Crops. Scientific works of the Omsk Order of Lenin Agricultural Institute named after S. Kirov. 1972;100:110-115 (in Russian)]

Рсалиев А.С., Рсалиев Ш.С. Основные подходы и достижения в изучении расового состава стеблевой ржавчины пшеницы. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2018;22(8):967-977. DOI 10.18699/VJ18.439

[Rsaliev A.S., Rsaliev Sh.S. Principal approaches and achievements in studying race composition of wheat stem rust. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii= Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2018;22(8):967-977. DOI 10.18699/VJ18.439]

Самофалова Н.Е., Дерова Т.Г., Дубинина О.В., Иличкина Н.П., Костыленко О.А., Каменева А.С. Устойчивость селекционного материала озимой твердой пшеницы к листовым болезням. *Зерн. хоз-во России*. 2018;2(56):64-70. DOI 10.31367/2079-8725-2018-56-2-64-70

[Samofalova N.E., Derova T.G., Dubinina O.V., Ilichkina N.P., Kostylenko O.A., Kameneva A.S. Tolerance of the selection material of winter durum wheat to leaf diseases. *Zernovoe Khozjaistvo Rossii = Grain Economy of Russia*. 2018;2(56):64-70. DOI 10.31367/2079-8725-2018-56-2-64-70 (in Russian)]

Санин С.С., Ибрагимов Т.З., Стрижекозин Ю.А. Метод расчета потерь урожая пшеницы от болезней. *Защита и карантин растений*. 2018;1:11-15

[Sanin S.S., Ibragimov T.Z., Strizhekozin Yu.A. Method for calculating wheat yield losses from diseases. *Zashchita i Karantin Rasteniy = Plant Protection and Quarantine*. 2018;1:11-15 (in Russian)]

Селянинов Т.Т. О сельскохозяйственной оценке климата. В: Труды по сельскохозяйственной метеорологии. Вып. 20. Л.: Гидрометеоиздат, 1928;165-177

[Selyaninov T.T. On agricultural climate assessment. In: Works on Agricultural Meteorology. Vol. 20. Leningrad: Gidrometeoizdat Publ., 1928;165-177 (in Russian)]

Сколотнева Е.С., Кельбин В.Н., Моргунов А.И., Бойко Н.И., Шаманин В.П., Салина Е.А. Расовый состав Новосибирской популяции *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. *Микология и фитопатология*. 2020; 54(1):49-58. DOI 10.31857/S0026364820010092

[Skolotneva E.S., Kelbin V.N., Morgunov A.I., Boyko N.I., Shamanin V.P., Salina E.A. Race composition of the Novosibirsk population of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. *Biology Bull. Rev.* 2023;13(Suppl.1):S114-S122. DOI 10.1134/S2079086423070125]

Сочалова Л.П., Пискарев В.В. Устойчивость сортов яровой мягкой пшеницы к возбудителям инфекционных заболеваний в условиях изменяющегося климата Западной Сибири. *Достижения науки и техники АПК*. 2017;31(2):21-25

[Sochalova L.P., Piskarev V.V. Resistance of varieties of spring soft wheat to agents of infections under conditions of changing climate of Western Siberia. *Dostizheniya Nauki i Tekhniki APK = Achievements of Science and Technology of AIC*. 2017;31(2):21-25 (in Russian)]

Харина А.В., Амунова О.С. Устойчивость к пыльной головне и адаптивность сортов яровой мягкой пшеницы из коллекции ВИР. *Аграр. наука Евро-Северо-Востока*. 2020;21(1):18-27. DOI 10.30766/2072-9081.2020.21.1.18-27

[Kharina A.V., Amunova O.S. Loose smut resistance and adaptability of spring soft wheat varieties of VIR collection. *Agrarnaya Nauka Evro-Severo-Vostoka = Agricultural Science Euro-North-East*. 2020; 21(1):18-27. DOI 10.30766/2072-9081.2020.21.1.18-27 (in Russian)]

Шаманин В.П., Моргунов А.И., Петуховский С.Л., Лихенко И.Е. Селекция яровой мягкой пшеницы на устойчивость к стеблевой ржавчине в Западной Сибири. Омск: ОмГАУ, 2015

[Shamanin V.P., Morgunov A.I., Petukhovskiy S.L., Likhenko I.E. Breeding of Spring Soft Wheat for Resistance to Stem Rust in Western Siberia. Omsk: Omsk State Agrarian University, 2015 (in Russian)]

Широков А.И., Рейтер Б.Г. Оценка сельскохозяйственных культур на устойчивость к болезням в Сибири. Новосибирск: ВАСХНИЛ, 1981

[Shirokov A.I., Reiter B.G. Assessment of Agricultural Crops for Resistance to Diseases in Siberia. Novosibirsk: VASKHNIL, 1981 (in Russian)]

Широков А.И., Чмут Л.Я., Мясникова Г.А., Мешков В.В., Масленкова Л.И. Характеристика сортов зерновых культур на устойчивость к основным заболеваниям в условиях Западной Сибири. Новосибирск: ВАСХНИЛ, 1977

[Shirokov A.I., Chmut L.Ya., Myasnikova G.A., Meshkov V.V., Maslenkova L.I. Characteristics of Grain Crop Varieties for Resistance to Basic Diseases in Western Siberia. Novosibirsk: VASKHNIL, 1977 (in Russian)]

Шишкин Н.В., Дерова Т.Г., Марченко Д.М. Результаты оценки коллекционных образцов озимой пшеницы на устойчивость к твердой головне. *Зерн. хоз-во России*. 2015;2:60-63

[Shishkin N.V., Derova T.G., Marchenko D.M. Assessment results of collection samples of winter wheat on tolerance to smut (*Tilletia levis*). *Zernovoe Khozjaistvo Rossii = Grain Economy of Russia*. 2015; 2:60-63 (in Russian)]

Юсов В.С., Евдокимов М.Г., Мешкова Л.В., Шмакова О.А. Комплексная оценка источников устойчивости к ржавчинным и головневым болезням твердой пшеницы селекции Омского АНЦ. В: Современная интегрированная защита растений. Новосибирск: Изд. центр НГАУ «Золотой колос», 2022;108-112

[Yusov V.S., Evdokimov M.G., Meshkova L.V., Shmakova O.A. Comprehensive assessment of sources of resistance to rust and smut diseases of durum wheat breeding by the Omsk ASC. In: Modern Integrated Plant Protection. Novosibirsk: Publ. Center of the Novosibirsk State Agrarian University "Zolotoj Kolos", 2022;108-112 (in Russian)]

Goyeau H., Berder J., Czerepak C., Gautier A., Lanen C., Lannou C. Low diversity and fast evaluation in the population of *Puccinia triticina* causing durum wheat leaf rust in France from 1998–2009, as revealed by an adapted differential set. *Plant Phatol*. 2012;61(4):761-772. DOI 10.1111/j.1365-3059.2011.02554.x

Peterson R.F., Campbell A., Hannah A. 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

Roelfs A.P., Singh R.P., Saari E.E. Rust Diseases of Wheat: Concepts and methods of disease management. Mexico, DF: CIMMYT, 1992

Simeone R., Piarulli L., Nigro D., Signorile M.A., Blanco E., Mangini G., Blanco A. Mapping powdery mildew (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*) resistance in wild and cultivated tetraploid wheats. *Int. J. Mol. Sci*. 2020;21(21):7910. DOI 10.3390/ijms21217910

West J.S., Holdgate S., Townsend J.A., Edwards S.G., Jennings P., Fitt B.D.L. Impacts of changing climate and agronomic factors on fusarium ear blight of wheat in the UK. *Fungal Ecol*. 2012;5(1):53-61. DOI 10.1016/j.funeco.2011.03.003

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 20.05.2024. После доработки 06.09.2024. Принята к публикации 10.09.2024.

Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции
Letters to Vavilov Journal of Genetics and Breeding
2024 • 10 • 3 • 177-181

pismavavilov.ru
DOI 10.18699/letvjgb-2024-10-20

Оригинальное исследование

Сравнение наборов для измерения концентрации ДНК методом флюоресценции на нижней границе диапазона измерений

П.С. Орлов[1, 2]✉, О.П. Хрипко[1], Т.С. Кокорина[1], М.И. Воевода[1, 2]

Аннотация: В настоящее время необходима замена расходных материалов и реагентов от производителей из США и Евросоюза. В этой работе проводится сравнение наборов для измерения концентрации ДНК методом флюоресценции от производителей из Российской Федерации (Raissol Bio Spectra Q HS) и КНР (Vazyme Equalbit dsDNA HS) с набором производства США (Invitrogen™ Qubit™ dsDNA HS). С использованием данных наборов измерена концентрация ДНК 24 образцов плазмы периферической крови человека. Установлено, что абсолютные значения концентраций ДНК, определенных с помощью трех наборов, имели статистически значимые различия при парных сравнениях. При этом наибольшее медианное значение концентрации ДНК было зафиксировано с применением набора Raissol Bio Spectra Q HS (0.751 нг/мкл) по сравнению с наборами Vazyme Equalbit dsDNA HS (0.498 нг/мкл) и Invitrogen™ Qubit™ dsDNA HS (0.437 нг/мкл). Регрессионный анализ выявил значимые зависимости между концентрациями ДНК, измеренными с помощью различных наборов. Наибольший коэффициент детерминации ($R^2 = 0.93$) был определен при сравнении значений концентраций ДНК, измеренных с использованием наборов Invitrogen : Vazyme. Для оставшихся двух пар, Invitrogen : Raissol и Vazyme : Raissol, коэффициенты детерминации не превышали значения в 0.521. Таким образом, измеренные концентрации ДНК с применением указанных наборов оказались сопоставимы между собой и могут быть пересчитаны относительно друг друга с помощью уравнений регрессии.

Ключевые слова: Qubit™; флюориметрическое измерение концентрации ДНК.
Для цитирования: Орлов П.С., Хрипко О.П., Кокорина Т.С., Воевода М.И. Сравнение наборов для измерения концентрации ДНК методом флюоресценции на нижней границе диапазона измерений. *Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2024;10(3):177-181. DOI 10.18699/letvjgb-2024-10-20
Финансирование: Исследование выполнено при финансовой поддержке государственного бюджетного проекта FWNR-2022-0021 и государственного бюджетного проекта 123012700001-1.

Original article

Comparison of fluorescence DNA quantification kits at the lower limit of the measurement range

P.S. Orlov[1, 2]✉, O.P. Khripko[1], T.S. Kokorina[1], M.I. Voevoda[1, 2]

Abstract: Today, it is necessary to replace consumables and reagents from manufacturers from the USA and the European Union. This work compares kits for measuring DNA concentration by fluorescence from manufacturers from the Russian Federation (Raissol Bio Spectra Q HS) and China (Vazyme Equalbit dsDNA HS) with the original kit manufactured in the USA (Invitrogen™ Qubit™ dsDNA HS). Using the above kits, the DNA concentration of 24 human peripheral blood plasma samples was measured. It was found that the absolute values of DNA concentrations determined using the three kits had statistically significant differences in pairwise comparisons. However, the highest median DNA concentration was recorded using the Raissol Bio Spectra Q HS kit (0.751 ng/μl) compared to the Vazyme Equalbit dsDNA HS (0.498 ng/μl) and Invitrogen™ Qubit™ dsDNA HS kits (0.437 ng/μl). Regression analysis revealed significant relationships between DNA concentrations measured using different kits. The highest coefficient of determination, $R^2 = 0.93$, was determined by comparing DNA concentration values measured using Invitrogen: Vazyme kits. For the remaining two pairs Invitrogen: Rais-

[1] Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины, Новосибирск, Россия
Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia
[2] Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia
✉ ops86@bionet.nsc.ru

© Орлов П.С., Хрипко О.П., Кокорина Т.С., Воевода М.И., 2024

Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0

sol and Vazyme: Raissol, the coefficients of determination did not exceed 0.521. Thus, the measured DNA concentrations using these kits turned out to be comparable and can be recalculated relative to each other using regression equations.
Key words: Qubit™; fluorescence DNA quantification.
For citation: Orlov P.S., Khripko O.P., Kokorina T.S., Voevoda M.I. Comparison of fluorescence DNA quantification kits at the lower limit of the measurement range. *Pisma v Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Letters to Vavilov Journal of Genetics and Breeding.* 2024;10(3):177-181. DOI 10.18699/letvjgb-2024-10-20 (in Russian)
Funding: The study was carried out with the financial support of the state budget project FWNR-2022-0021 and the state budget project 123012700001-1.

Введение

В настоящее время секвенирование нового поколения широко вошло в повседневную клиническую практику для диагностики и определения тактики лечения. Качество выделенных нуклеиновых кислот в большой степени зависит от различных преаналитических процедур, включающих фиксацию и доставку в лабораторию, а также среды, в которую был забран материал. Поэтому точность количественного определения ДНК играет ключевую роль в успешном проведении тестов.

Количество ДНК в растворе может быть измерено при помощи спектрофотометрии (Glasel, 1995; Huberman, 1995; Manchester, 1995), однако данный метод имеет ряд существенных недостатков. Во-первых, поглощение в ультрафиолетовом спектре не является избирательным в отношении ДНК, РНК или белка. Во-вторых, поглощение находится в сильной зависимости от различных загрязнителей. В-третьих, точность измерения таким методом, как правило, недостаточна при низких концентрациях ДНК. В качестве альтернативного метода определения количества ДНК в растворе, не имеющего таких недостатков, широко используется метод количественного анализа на основе флюоресценции (Le Pecq, Paoletti, 1966; Kapuscinski, 1995; Singer et al., 1997; Jones et al., 1998).

Преимущество технологии флюориметрического измерения ДНК перед спектрофотометрической – точность определения концентрации. Так, погрешность измерения для флюориметров составляет 1 %, в отличие от 5 %, характерных для спектрофотометрических методов измерения ДНК (Bonin et al., 2010; Turashvili et al., 2012; Sah et al., 2013). Этот метод особенно востребован для анализа свободно циркулирующей ДНК плазмы крови, так как ее концентрация относительно невысока. Для пациентов с коронавирусной инфекцией COVID-19, сыворотка крови которых была использована в нашей работе, по данным разных авторов, колеблется в пределах от 0.1 до 6.5 нг/мкл, в зависимости от клинической картины заболевания и возраста пациентов (Hoeter et al., 2023; Mishra et al., 2023). В настоящее время разработано несколько тест-систем для оценки концентрации нуклеиновых кислот с использованием флюориметров. Кроме того, на сегодняшний день возникла необходимость замены недоступных и/или слишком дорогих расходных материалов и реагентов от производителей из США и Евросоюза.

В этой работе проводится сравнение альтернативных наборов для измерения концентрации ДНК методом флюоресценции от производителей из Российской Федерации и КНР с исходным набором производства США.

Материалы и методы

В работе использована плазма периферической крови 24 пациентов с коронавирусной инфекцией COVID-19 с ожидаемой концентрацией ДНК в пределах от 0.1 до 6.5 нг/мкл (Hoeter et al., 2023; Mishra et al., 2023). Кровь собирали в вакуумные пробирки, содержащие антикоагулянт К3 ЭДТА в количестве 9 мл. После осаждения эритроцитарной массы плазму аликвотировали и замораживали в кельвинаторе при –80 °C.

Для выделения нуклеиновых кислот плазму размораживали. Выделение проводили из 100 мкл при помощи комплекта реагентов для выделения тотальной РНК и ДНК из клинического материала «РИБО-ПРЕП» («АмплиСенс», Россия) согласно инструкции изготовителя. Полученные нуклеиновые кислоты растворяли в 50 мкл буфера, предлагающегося к набору.

Концентрацию ДНК определяли в тонкостенных пробирках для ПЦР, адаптированных для использования с флюориметром Qubit™ (кат. № Q32856, Invitrogen, США). Для построения калибровочной кривой использовали 10 мкл стандарта, для исследования концентрации ДНК – 10 мкл раствора ДНК, выделенного из плазмы крови.

Оценку содержания ДНК набором Qubit™ dsDNA HS (Invitrogen) (далее – Invitrogen) проводили согласно инструкции изготовителя. Рабочий раствор готовили непосредственно перед постановкой анализа путем разведения Qubit™ dsDNA HS Reagent 1:200 в Qubit™ dsDNA HS Buffer. Определение содержания ДНК набором Equalbit HS (Vazyme, Китай) (далее – Vazyme) и набором Raissol Bio Spectra Q HS (ООО «Сесана», Россия) (далее – Raissol) проводили согласно инструкциям изготовителей.

Мастер-микс для определения ДНК готовили непосредственно перед работой путем разведения для Equalbit HS dye 1:200 Equalbit HS buffer и Spectra Q HS dye 1:200 в Spectra Q HS buffer соответственно. Для наборов Qubit™ dsDNA HS и Equalbit HS производителями заявлен рабочий диапазон концентраций 0.01 до 100 нг/мкл, для Spectra Q HS – диапазон 0.1–100 нг/мкл.

В стандарты и анализируемые образцы добавляли по 190 мкл рабочего раствора соответствующего производителя, мягко перемешивали при помощи вортекса, избегая образования пузырей. Измерение содержания ДНК проводили после инкубации в течение 2 мин в трех независимых репликах, затем полученные значения усредняли. Проверку статистических гипотез выполняли с применением программы IBM® SPSS Statistics v23. Выборки тестировали на нормальность распределения при помощи теста Колмогорова–Смирнова (Алгоритмы биологической статистики,

Таблица 1. Первичные данные о концентрации ДНК (нг/мкл) в плазме крови
Table 1. Primary data on DNA (ng/µl) concentration in blood plasma

Номер образца	Invitrogen™ Qubit™ dsDNA HS	Raissol Bio Spectra Q HS	Vazyme Equalbit dsDNA HS
1	0.935	1.190	1.05
2	0.484	0.871	0.599
3	0.507	0.969	0.575
4	0.522	0.796	0.67
5	0.89	1.365	0.889
6	0.459	0.814	0.486
7	0.287	0.62	0.407
8	0.405	0.584	0.505
9	0.406	0.776	0.425
10	0.309	0.819	0.351
11	0.708	1.745	0.8
12	0.366	0.679	0.432
13	0.503	0.979	0.594
14	0.471	0.502	0.536
15	0.324	0.749	0.386
16	0.409	0.594	0.564
17	0.255	0.6725	0.414
18	0.493	0.753	0.66
19	0.416	0.563	0.491
20	0.457	0.592	0.483
21	0.294	0.54	0.427
22	0.31	0.339	0.404
23	0.8	0.829	0.828
24	0.371	0.651	0.422

2018). Поскольку в некоторых выборках распределение отклонялось от нормального и выборки были зависимыми, для оценки различий между исследуемыми наборами применяли критерии непараметрической статистики для зависимых выборок (критерий Уилкоксона с поправками Бонферрони), а также метод линейной регрессии.

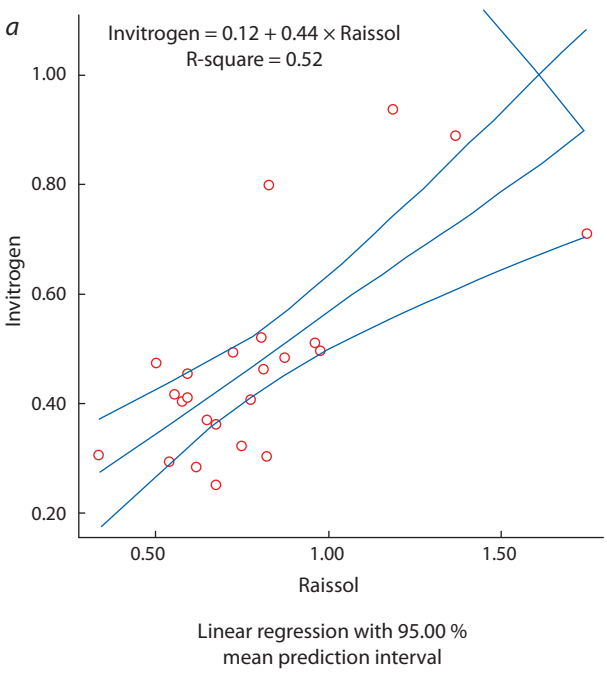
Результаты и обсуждение

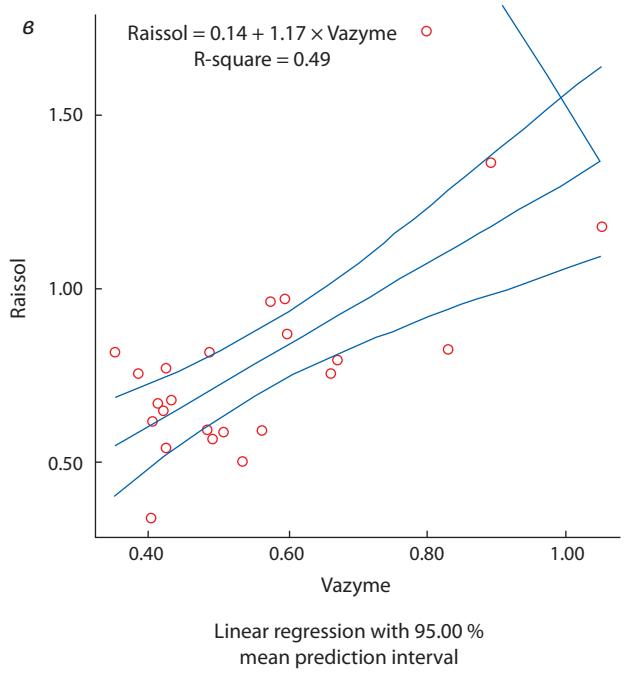
Абсолютные значения концентраций ДНК, измеренных с использованием трех различных наборов, приведены в табл. 1. Базовая статистика для полученных выборок представлена в табл. 2. Показано, что распределение концентраций ДНК, измеренных с помощью наборов Invitrogen™ $p = 0.002$ и Raissol $p = 0.014$, отклонялось от нормального. Попарное сравнение трех зависимых выборок непараметрическими методами (критерий Уилкоксона с поправками Бонферрони) выявило значимые различия между концентрациями ДНК, измеренными с использованием всех тест-систем (Invitrogen™ и Raissol: z-score = –4.286, $p < 0.001$; Invitrogen™ и Vazyme: z-score = –4.257, $p < 0.001$; Raissol и Vazyme: z-score = –4.086, $p < 0.001$). Сравнение полученных значений с помощью метода линейной регрессии показало значимые зависимости между всеми парами сравнений (Invitrogen™ и Raissol: R = 0.72, $p < 0.001$; Invitrogen™ и Vazyme: R = 0.97, $p < 0.001$; Raissol и Vazyme: R = 0.7, $p < 0.001$) (см. рисунок). Таким образом, результаты определения ДНК наборами Invitrogen™ и Vazyme были сопоставимы между собой, поскольку только в данной паре значение коэффициента детерминации R^2 было выше 0.93.

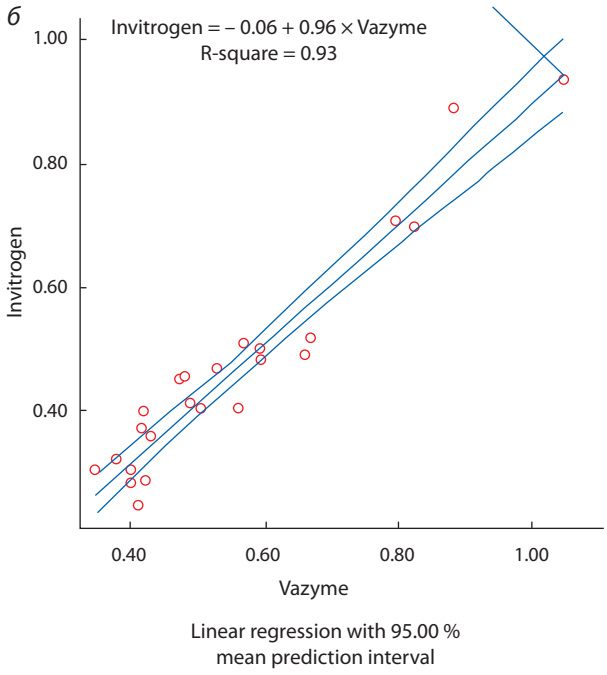
В этом исследовании проведено сравнение трех наборов для определения содержания ДНК в пробе с использованием флюориметра Qubit™. В более ранних исследованиях показано, что точность определения ДНК зависит от используемого для определения красителя (Singer et al., 1997). Часть красителей способна связываться не только с двуцепочечной, но и с одноцепочечной ДНК и РНК.

Таблица 2. Результаты расчетов базовой статистики для всех проведенных измерений концентрации ДНК (нг/мкл)
Table 2. Statistical data for all DNA concentration measurements performed (ng/μl)

Статистические параметры	Invitrogen™ Qubit™ dsDNA HS	Raissol Bio Spectra Q HS	Vazyme Equalbit dsDNA HS
Медиана	0.437	0.751	0.498
Q1–Q3	0.334–0.506	0.592–0.861	0.427–0.645
Стандартное отклонение	0.185	0.30	0.18
Минимум-максимум	0.26–0.94	0.34–1.75	0.35–1.05







Корреляция между концентрациями ДНК, измеренными с помощью наборов Invitrogen™ Qubit™ dsDNA HS и Raissol Bio Spectra Q HS (*а*), Invitrogen™ Qubit™ dsDNA HS и Vazyme Equalbit dsDNA HS (*б*), Raissol Bio Spectra Q HS и Vazyme Equalbit dsDNA HS (*в*)

Correlation between DNA concentrations, measured by kits Invitrogen™ Qubit™ dsDNA HS and Raissol Bio Spectra Q HS (*a*), Invitrogen™ Qubit™ dsDNA HS and Vazyme Equalbit dsDNA HS (*b*), Raissol Bio Spectra Q HS and Vazyme Equalbit dsDNA HS (*c*)

Нами было показано, что две пары наборов, Invitrogen/Raissol и Vazyme/Raissol, значимо различаются между собой при оценке концентрации нуклеиновых кислот на нижних границах диапазона измерения. Значения, полученные в паре Invitrogen/Vazyme, сопоставимы между собой (см. рисунок). Подобные отличия необходимо учитывать, особенно при разведении ДНК библиотек для секвенирования нового поколения, во избежание низкого количества полученных прочтений. Отметим, что цель нашего исследования не состояла в характеристике наборов для других доступных для них концентраций. Поэтому в иных диапазонах концентраций результаты сравнения могут отличаться от описанных в этой работе.

Заключение

В ходе работы показано, что концентрации ДНК, измеренные с помощью трех наборов, имели статистически значимые различия при парных сравнениях. Значения концентраций ДНК, измеренных с использованием наборов Invitrogen/Vazyme, оказались сопоставимы между собой и могут быть пересчитаны друг относительно друга с применением уравнений регрессии. Кроме того, медианное значение концентрации ДНК, измеренной с помощью набора Raissol Bio Spectra Q HS, было существенно выше, чем значение концентрации, измеренной с использованием наборов Invitrogen™ Qubit™ dsDNA HS и Vazyme Equalbit dsDNA HS.

Список литературы / References

Алгоритмы биологической статистики: учебн.-метод. пособие / сост. С.П. Кожевников. Ижевск: Изд. центр «Удмуртский университет», 2018
[Algorithms of Biological Statistics: Educational Method: allowance / comp. S.P. Kozhevnikov. Izhevsk: Publ. House Center "Udmurt University", 2018]

Телышева Е.Н. Свободно-циркулирующая ДНК плазмы крови. Возможности применения в онкологии. *Вестник Российского научного центра рентгенорадиологии Минздрава России*. 2017; 17(2):2
[Telysheva E.N. Free-circulating DNA of blood plasma. Possible applications in oncology. *Vestnik Rossijskogo Nauchnogo Tsentra Rentgenoradiologii Minzdrava Rossii = Bulletin of the Russian Scientific Center of Radiology of the Ministry of Health of Russia*. 2017;17(2):2. (in Russian)]

Bonin S., Hlubek F., Benhattar J., Denkert C., Dietel M., Fernandez P.L., Höfler G., Kothmaier H., Kruslin B., Mazzanti C.M., Perren A., Popper H., Scarpa A., Soares P., Stanta G., Groenen P.J. Multicentre validation study of nucleic acids extraction from FFPE tissues. *Virchows Arch*. 2010;457(3):309-317. DOI 10.1007/s00428-010-0917-5

Glasel J.A. Validity of nucleic acid purities monitored by 260 nm/280 nm absorbance ratios. *BioTechniques*. 1995;18:62-63

Hoeter K., Neuberger E., Fischer S., Herbst M., Juškevičiūtė E., Enders K., Rossmann H., Sprinzl M.F., Simon P., Bodenstein M., Schaefer M. Evidence for the utility of cfDNA plasma concentrations to predict disease severity in COVID-19: a retrospective pilot study. *PeerJ*. 2023;11:e16072. DOI 10.7717/peerj.16072. PMID: 37744227; PMCID: PMC10512938

Huberman J.A. Importance of measuring nucleic acid absorbance at 240 nm as well as at 260 and 280 nm. *Biotechniques*. 1995;18:636

Jones L.J., Yue S.T., Cheung C.Y., Singer V.L. RNA quantitation by fluorescence-based solution assay: RiboGreen reagent characterization. *Anal. Biochem*. 1998;265:368-374. DOI 10.1006/abio.1998.2914

Kapuscinski J. DAPI: A DNA-specific fluorescent probe. *Biotech. Histochem*. 1995;70(5):220-233. DOI 10.3109/10520299509108199

Le Pecq J.B., Paoletti C. A new fluorometric method for RNA and DNA determination. *Anal. Biochem. 1*966;17:100-107. DOI 10.1016/0003-2697(66)90012-1

Manchester K.L. Value of A260/A280 ratios for measurement of purity of nucleic acids. *Biotechniques*. 1995;19:208-210

Mishra S., Dubey D.B., Agarwal K., Dubey D.B., Verma S., Shabbir N., Kushwaha R., Reddy D.H., Singh U.S., Ali W. Circulating cell-free DNA level in prediction of COVID-19 severity and mortality: correlation of with haematology and serum biochemical parameters. *Indian J. Clin. Biochem*. 2023;38(2):172-181. DOI 10.1007/s12291-022-01082-4. Epub 2022 Aug 21. PMID: 36032561; PMCID: PMC9392861

Sah S., Chen L., Houghton J., Kemppainen J., Marko A.C., Zeigler R., Latham G.J. Functional DNA quantification guides accurate next-generation sequencing mutation detection in formalin-fixed, paraffin-embedded tumor biopsies. *Genome Med*. 2013;5:77. DOI 10.1186/gm481

Singer V.L., Jones L.J., Yue S.T., Haugland R.P. Characterization of PicoGreen reagent and development of a fluorescence-based solution assay for double-stranded DNA quantitation. *Anal. Biochem*. 1997;249:228-238. DOI 10.1006/abio.1997.2177

Turashvili G., Yang W., McKinney S., Kalloger S., Gale N., Ng Y., Chow K., Bell L., Lorette J., Carrier M., Luk M., Aparicio S., Huntsman D., Yip S. Nucleic acid quantity and quality from paraffin blocks: Defining optimal fixation, processing and DNA/RNA extraction techniques. *Exp. Mol. Pathol*. 2012;92:33-43. DOI 10.1016/j.yexmp.2011.09.013

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Спонсоры не участвовали в разработке исследования, при сборе, анализе или интерпретации данных, в написании рукописи или в решении опубликовать результаты.

Поступила в редакцию 11.01.2024. После доработки 11.07.2024. Принята к публикации 15.07.2024.

Сетевое издание «Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции» – реестровая запись СМИ Эл № ФС77-75536, зарегистрировано Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций 08 мая 2019 г.

Основано в 2015 году (до 2019 года выходило под названием «Письма в Вавиловский журнал»). На страницах издания публикуются результаты экспериментальных, методических и теоретических исследований, аналитические обзоры по всем разделам генетики и селекции, а также по смежным областям биологических и сельскохозяйственных наук; материалы и документы по истории генетики и селекции; описания сортов растений и пород животных; рецензии; письма, адресованные редактору; персоналии и мемориальные статьи; хроника и информация из региональных отделений Вавиловского общества генетиков и селекционеров.

Цель издания – донести новейшие результаты фундаментальных и прикладных исследований в области генетики растений, животных, человека, микроорганизмов, описание новых методов и селекционных достижений до наибольшего числа ученых, включая специалистов из смежных областей науки и техники, а также до преподавателей вузов, читающих курсы лекций по генетике и селекции.

Сетевое издание «Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции» с 15.06.2023 включено в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, по специальностям и отраслям науки:

- 1.5.7. Генетика (биологические науки)
- 1.5.22. Клеточная биология (биологические науки)
- 4.1.2. Селекция, семеноводство и биотехнология растений (биологические науки)
- 4.1.2. Селекция, семеноводство и биотехнология растений (сельскохозяйственные науки)

Индексируется в РИНЦ, включено в DOAJ.

Прием статей осуществляется через электронную почту редакции: pismavavilov@bionet.nsc.ru

Адрес издания в сети интернет: https://pismavavilov.ru/

При перепечатке материалов ссылка на издание обязательна.

Учредитель и издатель: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН)
Почтовый адрес учредителя и издателя: проспект Академика Лаврентьева, 10, Новосибирск, 630090
Почтовый адрес редакции: проспект Академика Лаврентьева, 10, Новосибирск, 630090
Телефон редакции: (383) 363 4963, доб. 5316
✉ Электронный адрес редакции: pismavavilov@bionet.nsc.ru

Выпуск подготовлен информационно-издательским отделом ИЦиГ СО РАН.

Дата публикации: 30.09.2024