

УДК 632.42: 633:576.3/7.086.83:581.4

ИДЕНТИФИКАЦИЯ НОСИТЕЛЕЙ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ К ЖЕЛТОЙ *YR5*, *YR10*, *YR15* И БУРОЙ РЖАВЧИНЕ *LR26*, *LR34* НА ОСНОВЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО СКРИНИНГА ОБРАЗЦОВ ПШЕНИЦЫ

Кохметова А.М., Сапахова З.Б., Маденова А.К., Есенбекова Г.Т.

Институт биологии и биотехнологии растений, ул. Тимирязева, 45, Алматы, 050040, Казахстан

gen_kalma@mail.ru

Ржавчинные болезни пшеницы являются одной из главных причин снижения урожайности этой культуры. Желтая (*Puccinia striiformis f. sp. tritici*) и бурая (*Puccinia recondita* Rob.et Desm f. *tritici* Eriks) виды ржавчины пшеницы являются наиболее распространенными и опасными болезнями пшеницы, которые наносят серьезный экономический ущерб, снижая урожай и качество зерна. Использование генетически устойчивых сортов является наиболее эффективным, экономически и экологически надежным методом контроля болезней, позволяющим снизить или элиминировать применение фунгицидов и свести к минимуму потери урожая от ржавчины. В связи с угрозой развития эпифитотий ржавчинных болезней необходимо выявление новых доноров устойчивости к желтой и бурой ржавчине и создание на их основе селекционного материала пшеницы. В результате фитопатологической оценки на восприимчивость к ржавчине на инфекционном фоне нами отобран ряд устойчивых образцов к *Puccinia striiformis* и *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*. В настоящем исследовании внимание было обращено на часть эффективных генов устойчивости к желтой и бурой ржавчине – *Yr5*, *Yr10* *Yr15*, а также комплекс генов *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8* и *Yr18/Lr34*, которые идентифицировали в процессе молекулярного скрининга гермоплазмы пшеницы. С использованием молекулярных маркеров ген *Yr5* идентифицирован у 1 образца, *Yr10* – у 5, *Yr1* – у 2, комплекс генов устойчивости *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8* – у 3 и комплекс генов *Yr18/Lr34* – у 6 образцов. Наиболее ценными донорами устойчивости к ржавчине являются сорта Мереке 70 и Акдан, у которых идентифицировано по 2 гена устойчивости к ржавчине. У сорта Мереке 70 обнаружено присутствие высокоэффективных генов *Yr10* и *Yr18/Lr34*, а у сорта Дастан – генов *Yr10* и *Yr15*. Полученные результаты используются в Казахстане для создания устойчивых к желтой и бурой ржавчине сортов пшеницы с применением MAS-селекции.

Ключевые слова: пшеница, гены устойчивости, желтая ржавчина, бурая ржавчина, молекулярные маркеры.

IDENTIFICATION OF CARRIERS OF YELLOW *YR5*, *YR10*, *YR15* AND LEAF *LR26*, *LR34* RESISTANCE GENES UNDER MOLECULAR SCREENING OF WHEAT ENTRIES

Kokhmetova A.M., Sapakhova Z.B., Madenova A.K., Yessenbekova G.T.

Institute of Plant Biology and Biotechnology, 45 Timiryazev str., Almaty, 050040, Kazakhstan

gen_kalma@mail.ru

Wheat rust diseases are a major cause of yield losses of this crop. Yellow (*Puccinia striiformis f. sp. tritici*) and leaf (*Puccinia recondita* Rob.et Desm f. *tritici* Eriks) rusts are of the most widespread and dangerous diseases of wheat and are the major factor that adversely affects wheat yield and quality and causes considerable economic damage. Use of genetic host resistance is the most effective, economical

and environmentally safe method of controlling stripe rust that allow to eliminate the use of fungicides and minimize crop losses from this disease. Due to the threat of development epiphytotic rust disease it is necessary to identify new donors of resistance to yellow and leaf rust and creation on their basis of wheat breeding material. As a result phytopathological assesses susceptibility to rust on infectious background we have selected a number of samples resistant to *Puccinia striiformis* and *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*. In the present study, attention was drawn to the effective resistance genes to yellow and leaf rust – *Yr5*, *Yr10* *Yr15*, as well as gene complex *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8* and *Yr18/Lr34*, which were identified in the process of molecular screening of wheat germplasm. Using molecular markers gene *Yr5* identified in 1 sample, *Yr10* – in 5, *Yr15* – in 2, complex of resistance genes *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8* – in 3 and gene complex *Yr18/Lr34* – in 6 samples. The most valuable donors of rust resistance are cultivars Mereke 70 and Akdala with 2 identified rust resistance genes. In cv. Mereke 70 highly efficient genes *Yr10* and *Yr18/Lr34* and in cv. Dastan *Yr10* and *Yr15* were identified. The results are used in Kazakhstan to create yellow and leaf rust resistant wheat varieties using MAS breeding. Our results provide an opportunity to move the breeding process in Kazakhstan to a new scientific level through the use of technology Marker Assisted Selection.

Keywords: wheat, resistance genes, yellow rust, leaf rust, molecular markers.

ВВЕДЕНИЕ

Основным критерием высокого уровня продовольственной безопасности является устойчивое воспроизводство зерна, масла и других сельскохозяйственных продуктов. В связи с этим одной из главных задач агропромышленного комплекса Казахстана является повышение урожайности и качества стратегически важных сельскохозяйственных культур. Годовое производство зерна пшеницы в мире составляет около 600 млн. т, предполагается, что к 2020 году потребность будет достигать уровня от 840 до 1000 млн. т [1]. По мнению международных экспертов, посевные площади пшеницы в мире уменьшаются, а урожайность пшеницы в большинстве развитых стран уже достигла предельного уровня. По оценке экспертов Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН (Food and Agriculture Organization – FAO), ежегодные мировые потери урожая от болезней и вредителей сельскохозяйственных культур выросли с 52,2 млн. условных зерновых единиц в 1986-1990 гг. до 70 млн. т в 1998-2005 гг. [1]. Аналогичная тенденция усиления их вредоносности наблюдается и в Казахстане. В период 2006-2010 гг. пшеницей в РК засевалось порядка 13 млн. гектаров и производится около 14 млн. тонн зерна [2, 3]. Потеря урожая – это экономический фактор, и он сильно влияет на устойчивость развития сельскохозяйственного производства.

В связи с активизацией напряженных очагов инфекции и необходимостью борьбы с ржавчиной в масштабе планеты международным сообществом была создана Глобальная инициатива по ржавчине пшеницы имени Лауреата Нобелевской Премии, отца «зеленой революции» доктора Нормана Борлауга (Borlaug Global Rust Initiative). Целью BGRI является снижение уязвимости пшеницы во всем мире к стеблевой, желтой и бурой ржавчине пшеницы, сдерживание угрозы ржавчины и увеличение потенциала урожайности пшеницы. Этой организацией проводятся ежегодные технические совещания, в ходе которых ученые координируют свои действия и усилия по борьбе с ржавчиной пшеницы. В период с 18 по 23 августа 2013 г. в Нью Дели, Индия, был проведен 5-й международный технический семинар BGRI, посвященный проблеме устойчивости к ржавчинным болезням пшеницы. Конференцию отличал высокий политический и научный уровень, о чем свидетельствовало участие в работе форума президента Индии, г-на Шри Пранаб Мукерджи, а также ведущих

фитопатологов и генетиков: R. McIntosh, R. Park, E. Lagudah, H. Bariana (Австралия), L. Szabo, B. Bowden (США), D. Hodson, R. Singh (СИММИТ, Мексика), Y. Jin (Канада), M. Howmoller (Дания), Z. Pretorius (ЮАР) и др. Казахская делегация была представлена группой ученых из 10 человек, включающих сотрудников и PhD-докторантов института биологии и биотехнологии растений, Казахского Национального аграрного университета, Евразийского национального университета им. Л.Н. Гумилева, АО «КазАгроИнновация» и Казахского НИИ защиты и карантина растений (Кохметова А.М., Сапахова З., Есенбекова Г., Маденова А., Кампитова Г.А., Дутбаев Е.Б., Сарсенбаев К.Н., Ахметова А., Абсаттарова А.С., Султанова Н.). На данной конференции нами были представлены доклады по проблемам ржавчины, посвященные поиску новых доноров устойчивости к видам ржавчины с использованием селекционных, фитопатологических и молекулярных методов.

На семинаре BGRI обсуждались результаты мониторинга ржавчинных болезней пшеницы в различных регионах мира. В докладах звучали призывы стран-производителей пшеницы усилить мониторинг и предупреждающие меры для недопущения появления ржавчины пшеницы, которое особенно быстро распространяется в сезоны дождей. Ржавчина может нанести существенный ущерб урожаю в Северной Африке, на Ближнем Востоке и в Азии, где в совокупности производится более 30% пшеницы в мире. Большое внимание уделялось мониторингу за распространением расы Ug99, выяснению механизмов формирования новых рас и вариантов ржавчины, скринингу гермоплазмы пшеницы на устойчивость к этой расе, улучшению высокоурожайных, адаптированных к местным условиям сортов путем рекуррентной селекции, выяснению молекулярных и биохимических механизмов устойчивости к ржавчине.

Эксперты ФАО, как и BGRI, осуществляют глобальную программу по ржавчине пшеницы, предоставляя политическую и техническую поддержку заинтересованным странам, уделяя особое внимание превентивным мерам. Это выведение и возделывание новых устойчивых сортов, использование сертифицированных семян, обучение фермеров, усиление мониторинга, принятие ответных мер в чрезвычайных ситуациях и международное сотрудничество [2]. С целью уменьшения риска возможных эпифитотий видов ржавчины казахстанские ученые работают в сотрудничестве с CIMMYT и ICARDA в соответствии с разработанной стратегией, которая включает в себя следующие положения:

- 1) мониторинг за распространением расы Ug99 из Восточной Африки;
- 2) скрининг имеющихся и создаваемых сортов пшеницы, а также коллекционных образцов на устойчивость к этой расе;
- 3) распространение источников устойчивости для селекции и устойчивых сортов для возделывания в регионах возможного риска;
- 4) улучшение высокоурожайных, адаптированных к местным условиям сортов путем рекуррентной селекции с использованием генетически разнообразных доноров устойчивости.

Одной из основных причин недобора урожая в Казахстане являются болезни с воздушно-капельной инфекцией. Ржавчинные болезни пшеницы являются одной из главных причин снижения урожайности этой культуры. В истории земледелия известны огромные эпифитотии ржавчины на пшенице, охватывающие целые континенты, что приводило к катастрофическим неурожаям. Доминирующее положение в составе патогенного комплекса

пшеницы на юге и юго-востоке Казахстана занимает желтая ржавчина пшеницы *Puccinia striiformis* West. Причиной вредоносности болезни в широком диапазоне климатических зон является высокая вариабельность патогена и его способность к миграции. Раса патогена желтой ржавчины, вирулентная к гену *Yr27*, стала причиной серьезных потерь урожая в Северной Африке, Западной и Восточной Азии во время сильных эпифитотий в 2009 и 2010 годах. В 2013 г. воздействию желтой ржавчины подвергались наиболее восприимчивые сорта в некоторых областях Афганистана, Азербайджана, Индии, Ирана, Ирака, Марокко, Пакистана, Турции и Узбекистана [2-4].

В последние годы в Центральной и Восточной Азии и Северной Африке, в том числе в Казахстане, обострилась фитосанитарная обстановка в связи с распространением желтой ржавчины пшеницы [5, 6]. В течение последних 15 лет имело место пять вспышек эпифитотий желтой ржавчины в регионе (в 1998, 2000, 2005, 2009 и 2010 гг.), что привело к значительным потерям урожая пшеницы [6]. На территории Казахстана патоген встречается почти ежегодно, исключая крайне засушливые годы.

Патоген *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* является облигатным и весьма специфическим паразитом. Особая опасность болезни обусловлена способностью патогена к мутации и быстрой смене генераций, что ускоряет расообразовательный процесс. Инокулом распространяется воздушным способом на значительные расстояния. Основными механизмами эволюции патогена в Центральной Азии являются серии скачкообразных мутаций и генетические рекомбинации [7]. Вредоносность ржавчины заключается в уменьшении ассимиляционной поверхности, резком возрастании транспирации, уменьшении накопления органического вещества. В связи с уменьшением в зерне глютеиновых компонентов с небольшой молекулярной массой, от которых зависит качество муки, ржавчина отрицательно сказывается на хлебопекарных показателях [8]. В большинстве пшеничных регионов потери зерна от желтой ржавчины варьируют от 10 до 70%, в зависимости от восприимчивости сорта, срока развития инфекции, продолжительности и уровня развития болезни [9, 10].

Другой опасной болезнью, обуславливающей недоборы урожая пшеницы в Казахстане, является бурая ржавчина (*Puccinia recondita* Rob. et Desm f. *tritici* Eriks). При эпифитотийном развитии бурой ржавчины в отдельности и совместно с септориозом потери урожая яровой пшеницы могут достигать 15-25%, а от стеблевой ржавчины - 40-50% и более [11]. В северном регионе Казахстана в 1990-2001 гг. 6 раз наблюдалось эпифитотийное развитие бурой ржавчины (*Puccinia recondita* Rob. et Desm f. *tritici* Eriks) и септориоза, что привело к снижению урожая и качества зерна до 20-30%. Заболевание встречается на всей территории Казахстана, где возделывают яровую и озимую пшеницу, в т.ч. и в засушливых областях – Кызылординской, Шымкентской, Карагандинской и Семипалатинской [12]. При поражении растений на 20% урожай снижается на 8-15%, масса 1000 зерен – на 7%. С 2003-2004 гг. эта болезнь стала также распространена на юге и юго-востоке Казахстана.

Использование генетически устойчивых сортов является наиболее эффективным, экономически и экологически надежным методом контроля болезней, позволяющим снизить или элиминировать применение фунгицидов и свести к минимуму потери урожая от ржавчины [13-15]. Наиболее широко используемыми типами устойчивости являются расоспецифическая (вертикальная) ювенильная и нерасоспецифическая (горизонтальная),

температурная устойчивость взрослого растения [16]. Устойчивость взрослого растения (APR – adult plant resistance) может быть обусловлена механизмом длительной устойчивости (durable) или замедленного (slow rusting) развития болезни [17]. Замедленная устойчивость представляет собой тип устойчивости, проявляющийся в среднем и низком уровне устойчивости против всех рас патогена [18]. Наиболее эффективна длительная устойчивость, основанная на аддитивных эффектах slow rusting генов [19].

К настоящему времени в каталоге генов пшеницы зарегистрировано более 70 генов устойчивости к желтой ржавчине, в том числе 40 идентифицированных и более 30 *Yr*-генов, имеющих временное обозначение [20]. Большинство из них – доминантные, расоспецифические, многие из них не способны защитить сорт от инфекции. Поэтому необходим поиск источников новых генов устойчивости к ржавчине пшеницы. Последние достижения в молекулярной генетике указывают на возможность создания маркеров, тесно сцепленных с генами устойчивости к желтой ржавчине. Применимость молекулярных маркеров для MAS зависит от степени сцепленности маркеров с генами устойчивости [10]. К настоящему времени молекулярные маркеры идентифицированы для ряда генов устойчивости к желтой ржавчине: *Yr5* [21, 22], *Yr9* [23], *Yr10* [24, 25], *Yr15* [26], *Yr28* [27] и для других *Yr*-генов.

На данный момент известно 68 *Lr*-генов и их аллелей к бурой ржавчине (*Lr*), и еще 25 находятся в стадии изучения [20]. Однако одной из основных проблем недолгой эффективности большинства *Lr*-генов является появление вирулентных рас патогена, которые способны преодолеть устойчивость. Вследствие этого многие из известных *Lr*-генов устойчивости становятся неэффективными. По данным ряда исследователей, эффективными для региона Центральной Азии и Казахстана являются гены устойчивости к желтой ржавчине *Yr5*, *Yr10* и *Yr15* [7, 5]. Анализ селекционного материала на присутствие пшенично-ржаной транслокации 1BL/1RS, несущей гены устойчивости к бурой *Lr26*, стеблевой *Sr31*, желтой *Yr9* ржавчины и мучнистой росы *Pm8* представляют большой интерес для селекции пшеницы в качестве доноров, обуславливающих комплекс адаптивных характеристик [28] APR ген возрастной устойчивости (*Adult Plant Resistance*) *Lr34*, сцепленный с геном устойчивости к желтой ржавчине *Yr18*, относится к числу высокоэффективных генов устойчивости к бурой ржавчине [29]. В наших предыдущих исследованиях было показано наличие комплекса генов *Yr18/Lr34* в ряде образцов пшеницы, их эффективность против Казахстанской популяции ржавчины [3]. В связи с этим в настоящем исследовании внимание было обращено на часть эффективных генов устойчивости к желтой и бурой ржавчине – *Yr5*, *Yr10*, *Yr15*, а также комплекс генов *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8* и *Yr18/Lr34*, которые идентифицировали в процессе молекулярного скрининга гермоплазмы пшеницы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследований было использовано 16 образцов мягкой пшеницы *Triticum aestivum*, включающие сорта Стекловидная 24, Егемен, Алмалы, Морокко, Безостая 1, Карасай, Майра, Мереке 70, Наз, Нуреке, Рамин, Сапалы, Юбилейная 60, Акдан, Дастан, а также линию 113/00i-4 (Родина /*Ae. Triuncialis* + 5 кР), предоставленную д.б.н. Лапочкиной И.Ф. (НИИ

Нечерноземной зоны, Россия). Для идентификации носителей комплекса генов *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8* в качестве исходного материала использовано 2 дополнительных образца - *Clement u Fed.4/Kavkaz*.

Анализ устойчивости образцов пшеницы к видам ржавчины проводили на полевом стационаре Казахского НИИ земледелия и растениеводства. Оценку развития болезни желтой и бурой ржавчиной проводили в фазу молочно-восковой спелости по принятой в СИММУТ методике, определяя инфекционный тип (в баллах) и степень поражения (%) [30]. В качестве восприимчивого контроля в полевых экспериментах использовали международный стандарт – сорт пшеницы Могоссо. Коллекции образцов пшеницы высевали во всех фитопатологических опытах на делянках площадью 1 м² в трехкратной повторности.

Выделение геномной ДНК из растительного материала осуществлено из 5-дневных проростков пшеницы с помощью СТАВ-метода [31]. Для идентификации носителей генов устойчивости использован метод полимеразной цепной реакции (ПЦР). В качестве положительного контроля при идентификации генов использованы образцы пшеницы, в которых гены устойчивости идентифицированы, а в качестве отрицательного контроля – образцы, в которых гены устойчивости не выявлены. Носители гена *Yr5* выявляли на основе ПЦР с использованием маркера *STS9/10* [32], ген *Yr15* - с использованием *SSR* маркера *Xgwm11* [33], ген *Yr10* – с использованием *SCAR* маркера [24], комплекс генов *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8* – с использованием маркера *Iag95* [34], а комплекс генов *Yr18/Lr34* – с использованием *STS* маркера *csLV34* [29]. Объем реакционной смеси для ПЦР составлял 25 мкл и содержал 2,5 мкл 10x буфера для *Taq*-полимеразы, 2,5 мкл *dNTP* (2,5 мМ каждого нуклеотида), 0,5 мкл каждого праймера, 0,5 мкл *Taq*-полимеразы, 18 мкл *MQ-H₂O*. Для разделения фрагментов амплифицированной ДНК электрофорез осуществляли в 2%-м агарозном или 8% полиакриламидном геле (ПААГ) в *TBE*-буфере (45 мМ трис-борат, 1мМ *EDTA*, рН 8) [16]. Амплификацию проводили в амплификаторе *Mastercycler* (*Eppendorf*, Германия) при следующих параметрах: начальная денатурация – 94°C в течение 5 мин; 45 циклов – 1 мин при 94°C; 1 мин – 45°C; 2 мин – 72°C; финальная элонгация проводилась в течение 7 мин при 72°C.

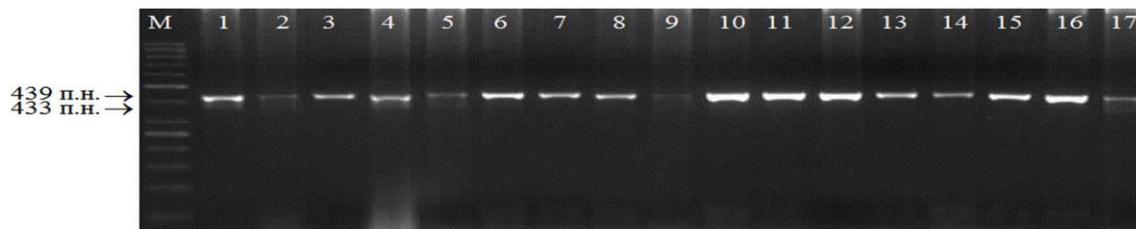
РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Поиск носителей генов устойчивости к видам ржавчины был основан на молекулярном скрининге образцов пшеницы с использованием специфичных для каждого гена праймеров. В образцах идентифицировали гены устойчивости к желтой и бурой ржавчине: *Yr5*, *Yr10*, *Yr15*, *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8* и *Yr18/Lr34*.

Ген устойчивости к желтой ржавчине *Yr5* идентифицирован в гексаплоидной пшенице *Triticum aestivum* ssp. *spelta* cv. *Album* [35] и локализован на длинном плече хромосомы 2В на расстоянии 21 сМ от центромеры [36]. Для идентификации носителей гена *Yr5* проведен ПЦР-анализ генотипов пшеницы с использованием маркера *STS-9/10*, фланкирующего локус гена *Yr5* на расстоянии 0,0 сМ [32]. Ожидаемый размер фрагмента амплификации для локуса *STS-9/10*, сцепленного с R-аллелем гена *Yr5* – 439 п.н., а сцепленного с S-аллелем – 433 п.н. На рисунке 1 представлены электрофореграммы продуктов амплификации ДНК. Анализ результатов ПЦР показал, что 2 генотипа формировали амплифицированный продукт, аналогичный маркеру гена *Yr5*. К носителям этого гена можно отнести линии *Yr5/6*Avocet* и *Дастан*. Оценка на инфекционном фоне

к казахстанской популяции желтой ржавчины показала высокую устойчивость указанных образцов пшеницы (0–5R). Таким образом, в результате молекулярного скрининга идентифицирован только 1 источник гена *Yr5* – сорт Дастан.

Доминантный ген *Yr10* был первоначально идентифицирован в линии пшеницы Р.1.178383 и локализован в коротком плече хромосомы 1В, на расстоянии 2,0 сМ от гена *Rg1*, контролирующего красную окраску колосковой чешуи [37], и на расстоянии 5,0 сМ от глиадин кодирующего гена *Gli-1B* [38].



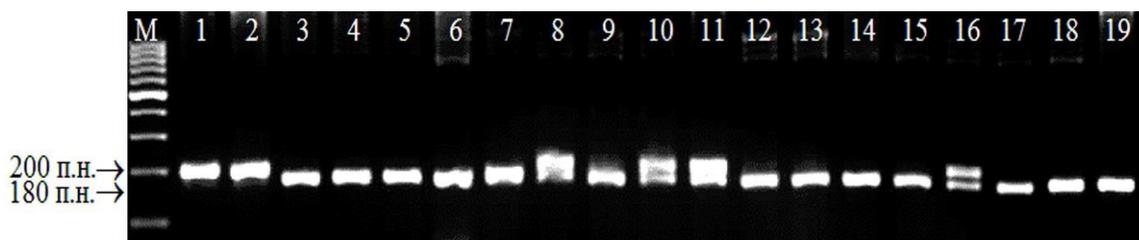
М – маркер молекулярного веса (Gene-Ruler 50bp DNA Ladder); 1 – положительный контроль, *Yr5*, почти изогенная линия *Yr5/6*Avocet S*; 2 – Стекловидная 24; 3 – Егемен; 4 – Алмалы; 5 – Морокко (отрицательный контроль); 6 – Безостая 1; 7 – Карасай; 8 – Майра; 9 – Мереке 70; 10 – Наз; 11 – Нуреке; 12 – Рамин; 13 – Сапалы; 14 – Юбилейная 60; 15 – Акдан; 16 – Дастан; 17 – 113/00i-4; 18 – отрицательный контроль (ddH₂O). Гель 2%-ный агарозный

Рисунок 1 - Продукты амплификации ДНК образцов пшеницы с использованием праймеров к локусу *STS-9/10*, сцепленному с геном устойчивости *Yr5*

М – molecular weight marker (Gene Ruler, 50 bp DNA Ladder); 1 – positive control, *Yr5*, near isogenic line *Yr5/6*Avocet S*; 2 – Steklovidnaya 24; 3 – Egemen; 4 – Almaly; 5 – Morocco (negative control); 6 – Bezostaya 1; 7 – Karasay; 8 – Mayra; 9 – Mereke 70; 10 – Naz; 11 – Nureke; 12 – Ramin; 13 – Sapaly; 14 – Yubileynaya 60; 15 – Akdan; 16 – Dastan; 17 – 113/00i-4; 18 – negative control (ddH₂O). 2% agarose gel.

Figure 1 - DNA amplification products of wheat samples using primers to the *STS-9/10* locus linked with the *Yr5* resistance gene

Тестирующей линией этого гена является французский сорт Мого. Ген *Yr10* показал устойчивость к большинству существующих изолятов *P. striiformis tritici* в Китае [39] и в Казахстане [35]. Для идентификации носителей этого гена проведен ПЦР-анализ образцов с использованием *SCAR* маркера, фланкирующего ген *Yr10* на расстоянии 0,5 сМ. Ожидаемый размер фрагмента амплификации для локуса *SCAR Yr10* – 200 п.н., а для восприимчивого аллеля гена – 180 п.н. [24]. Характерные для носителей гена *Yr10* ПЦР-продукты размером 200 п.н. выявлены у 5-ти образцов пшеницы, включающих Мого, Карасай, Мереке 70, Наз и Акдан (рисунок 2).



М – маркер молекулярного веса (Gene-Ruler 100bp DNA Ladder); 1 – положительный контроль, *Yr10*, почти изогенная линия *Yr10/6*Avocet S*; 2 – Мого; 3 – Стекловидная 24; 4 –

Егемен, 5 – Алмалы; 6 – Марокко (отрицательный контроль); 7 – Безостая 1; 8 – Карасай; 9 – Майра; 10 – Мереке 70; 11 – Наз; 12 – Нуреке; 13 – Рамин; 14 – Сапалы; 15 – Юбилейная 60; 16 – Акдан; 17 – Дастан; 18 – Yr5/6* Avocet S; 19-113/00i-4. Гель 2%-ный агарозный.

Рисунок 2 - Продукты амплификации ДНК образцов пшеницы с использованием праймеров к *SCAR* локусу, сцепленному с геном устойчивости *Yr10*

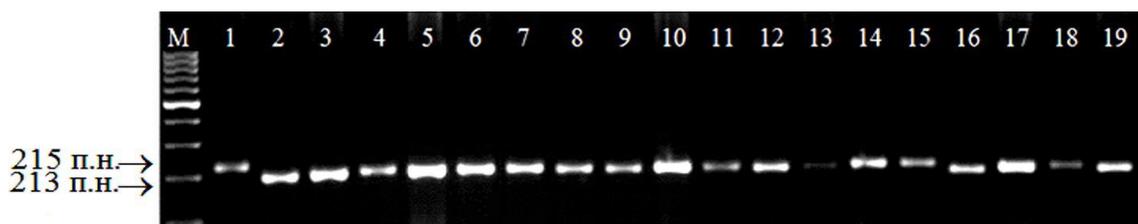
M – molecular weight marker (Gene Ruler, 100 bp DNA Ladder); 1 – positive control, *Yr10*, near isogenic line *Yr10/6*Avocet S*; 2 – Moro; 3 – Steklovidnaya 24; 4 – – Egeмен; 5 – Almaly; 6 – Morocco (negative control); 7 – Bezostaya 1; 8 – Karasay; 9 – Mayra; 10 – Mereke 70; 11 – Naz; 12 – Nureke; 13 – Ramin; 14 – Sapaly; 15 – Yubileynaya 60; 16 – Akdan; 17 – Dastan; 18 – Yr5/6* Avocet S, 19-113/00i-4. 2% agarose gel.

Figure 2 - DNA amplification products of wheat samples using primers to the *SCAR* locus linked with the *Yr10* resistance gene

Однако у изогенной линии *Yr10* и французского сорта Моро формируется бэнд, характерный для доминантного аллеля гена *Yr10*, в то время как остальные 4 сорта имели продукты амплификации (200 п.н. и 215 п.н.), характерные для гетерозиготного состояния гена (*Yr10yr10*). Оценка устойчивости к желтой ржавчине к казахстанской популяции желтой ржавчины показала высокую устойчивость указанных образцов пшеницы (R). Присутствие в геноме изученных линий гена *Yr10* было подтверждено проявлением морфологического маркера *Rgl* «красная окраска колосковой чешуи», тесно сцепленного с геном *Yr10*. Таким образом, результаты ПЦР-анализа и фитопатологической оценки свидетельствуют о том, что из 19 проанализированных перспективных линий пшеницы 5 содержат в своем генотипе эффективный ген *Yr10*.

Доминантный ген *Yr15* был перенесен в пшеницу от образца G-25 of *Triticum dicoccoides* Cogn. и локализован на коротком плече хромосомы 1В [40, 41]. Источником *Yr15* является Dippes Triumph, а тестирующей линией - *T. dicoccoides* G-25. Исследованиями X. Chen не выявлено североамериканских изолятов, вирулентных к *Yr15* [42]. Нашими исследованиями ранее показано, что этот ген также эффективен против казахстанских изолятов желтой ржавчины [5].

Для идентификации носителей гена *Yr15* проведен ПЦР-анализ генотипов пшеницы с использованием SSR маркера Xgwm11, расположенного на расстоянии 6,2 сМ от искомого гена. Ожидаемый размер фрагмента амплификации для локуса Xgwm11, сцепленного с R-аллелем гена *Yr15* – 215 п.н., а сцепленного с S-аллелем – 213 п.н. [33]. Анализу были подвергнуты образцы пшеницы, показавшие устойчивость к местной популяции желтой ржавчины на инфекционном фоне (5R–10MR). Фрагменты ДНК, указывающие на присутствие гена *Yr15*, выявлены у 2-х образцов пшеницы: Юбилейная 60 и Акдан (рисунок 3).



М – маркер молекулярного веса (Gene-Ruler 100bp DNA Ladder); 1 – положительный контроль, *Yr15*, почти изогенная линия *Yr15/6*Avocet S*; 2 – Стекловидная 24; 3 – Егемен; 4 – Алмалы; 5 – Марокко (отрицательный контроль); 6 – Безостая 1; 7 – Карасай; 8 – Майра; 9 – Мереке 70; 10 – Наз; 11 – Нуреке; 12 – Рамин; 13 – Сапалы; 14 – Юбилейная 60; 15 – Акдан; 16 – Дастан; 17 – *Yr10/6*Avocet S*; 18 – *Yr5/6*Avocet S*; 19-113/00i-4. Гель 2%-ный агарозный.

Рисунок 3 - Продукты амплификации ДНК образцов пшеницы с использованием праймеров к локусу *Xgwm11*, сцепленному с геном устойчивости *Yr15*

M – molecular weight marker (Gene Ruler, 100 bp DNA Ladder); 1 – positive control, *Yr15*, near isogenic line *Yr15/6*Avocet S*; 2 – Steklovidnaya 24; 3 – Egemen; 4 – Almaly; 5 – Morocco (negative control); 6 – Bezostaya 1; 7 – Karasay; 8 – Mayra; 9 – Mereke 70; 10 – Naz; 11 – Nureke; 12 – Ramin; 13 – Sapaly; 14 – Yubileynaya 60; 15 – Akdan; 16 – Dastan; 17 – *Yr10/6*Avocet S*; 18 – *Yr5/6*Avocet S*; 19-113/00i-4. 2% agarose gel.

Figure 3 - DNA amplification products of wheat samples using primers to the *Xgwm11* locus linked with the *Yr15* resistance gene

В селекции пшеницы широко используют ржаные транслокации, потому что они обеспечивают устойчивость к биотическим и абиотическим стрессам. Имеются сведения, что пшенично-ржаные транслокации сцеплены с рядом генов устойчивости к болезням (*Lr26*, *Sr31*, *Yr9* и *Pm8*) и обуславливают комплекс адаптивных характеристик [28]. При изучении образцов пшеницы на наличие транслокации 1BL/1RS и комплекса генов *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8* использован молекулярный маркер *Iag95* (рисунок 4) [34].



М – маркер молекулярного веса (Gene-Ruler 1000bp DNA Ladder); 1 – Clement; 2 – Fed.4/Kavkaz; 3 – положительный контроль, *Yr9*, почти изогенная линия *Yr9/6*Avocet S*; 4 – Стекловидная 24; 5 – Егемен; 6 – Алмалы; 7 – Марокко (отрицательный контроль); 8 – Безостая 1; 9 – Карасай; 10 – Майра; 11 – Мереке 70; 12 – Наз; 13 – Нуреке; 14 – Рамин; 15 – Сапалы; 16 – Юбилейная 60; 17 – Акдан; 18 – Дастан; 19 –113/00i-4. Гель 2%-ный агарозный.

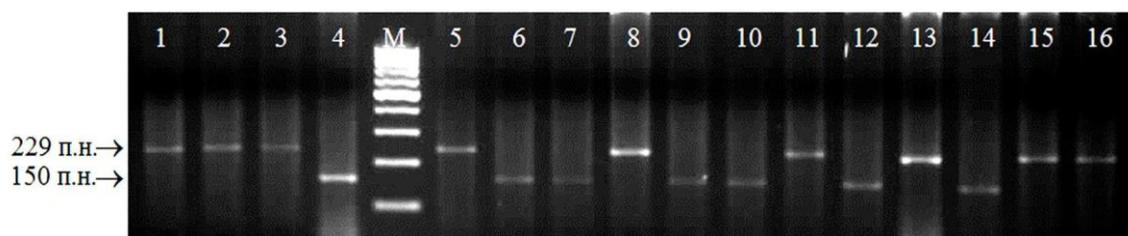
Рисунок 4 - Продукты амплификации ДНК образцов пшеницы с использованием праймеров к локусу *Iag95*, сцепленному с комплексом генов устойчивости *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8*

M – molecular weight marker (Gene Ruler, 1000 bp DNA Ladder); 1 – Clement, 2 – Fed.4/Kavkaz, 3 – positive control, *Yr9*, near isogenic line *Yr9/6*Avocet S*; 4 – Steklovidnaya 24; 5 – Egemen; 6 – Almaly; 7 – Morocco (negative control); 8 – Bezostaya 1; 9 – Karasay; 10 – Mayra; 11 – Mereke 70; 12 – Naz; 13 – Nureke; 14 – Ramin; 15 – Sapaly; 16 – Yubileynaya 60; 17 – Akdan; 18 – Dastan; 19-113/00i-4. 2% agarose gel.

Figure 4 - DNA amplification products of wheat samples using primers to the *Iag95* locus linked with the *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8* resistance genes complex

Маркер *Iag95* амплифицирует у R-аллелей генов устойчивости *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8* продукт размером 1100 п.н., в то время как S-аллель не образует ПЦР-продукта. В результате ПЦР с маркером *Iag95*, кроме положительного контроля, *Yr9/6*Avocet S*, фрагмент ДНК формировался размером 1100 п.н. у образцов пшеницы *Clement*, *Fed.4/Kavkaz*, и *113/00i-4*. В остальных генотипах он не обнаружен. Таким образом, источниками генов *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8* являются 3 образца пшеницы. Следует отметить, что в набор генотипов пшеницы, который был подвергнут ПЦР-анализу для идентификации комплекса генов *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8*, включены дополнительные образцы *Clement* и *Fed.4/Kavkaz*, у которых по литературным данным присутствует ген *Yr9*. Однако, предоставленные международным центром ICARDA образцы, по-видимому, представляли собой популяцию, а не чистый генетический материал, поскольку из проанализированных 20 линий по каждому сорту (*Clement* и *Fed.4/Kavkaz*) только у 2-х обнаружен фрагмент ДНК, соответствующий локусу *Iag95*. Отобранные линии этих сортов с идентифицированными искомыми генами будут использованы для последующей маркерной селекции. Таким образом, источниками генов *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8* являются 3 образца пшеницы: *Clement*, *Fed.4/Kavkaz*, и *113/00i-4*

Одним из эффективных генов является ген устойчивости к бурой ржавчине *Lr34*, тесно сцепленный с геном устойчивости к желтой ржавчине *Yr18*. Известно, что комплекс генов *Yr18/Lr34* относится к генам с длительным развитием ржавчины, “slow rusting genes”, которые обеспечивают длительную и неспецифическую устойчивость взрослого растения. Эти эффективные гены расположены на коротком плече хромосомы 7D. С целью идентификации носителей генов *Yr18/Lr34* проведен ПЦР-анализ с праймерами к STS-локусу *csLV34*, представляющий собой би-аллельный локус, расположенный на расстоянии 0,4 сМ от гена *Lr34* [29] (рисунок 5).



1 – Дастан; 2 – Акдан; 3 – Юбилейная 60; 4 – положительный контроль, *Yr18*, почти изогенная линия *Yr18/3*Avocet S*; М – Маркер молекулярного веса (Gene-Ruler 100 bp DNA Ladder); 5 – Сапалы; 6 – Рамин; 7 – Нуреке; 8 – Наз; 9 – Мереке 70; 10 – Майра; 11 – Карасай; 12 – Безостая1; 13 – Морокко (отрицательный контроль); 14 – Алмалы; 15 – Егемен; 16 – Стекловидная 24. Гель 2%-ный агарозный

Рисунок 5 - Продукты амплификации ДНК образцов пшеницы с использованием праймеров к локусу *csLV34*, сцепленному с комплексом генов устойчивости *Lr34/Yr18*

1 – Dastan; 2 – Akdan; 3 – Yubileynaya 60; 4 – positive control, *Yr18*, near isogenic line *Yr18/6*Avocet S*; M – molecular weight marker (Gene Ruler, 100 bp DNA Ladder); 5 – Sapaly; 6 – Ramin; 7 – Nureke; 8 – Naz; 9 – Mereke 70; 10 – Mayra; 11 – Karasay; 12 – Bezostaya 1; 13 – Morocco (negative control); 14 – Almaly; 15 – Egemen; 16 – Steklovidnaya 24. 2% agarose gel

Figure 5 - DNA amplification products of wheat samples using primers to the *csLV34* locus linked with the *Lr34/Yr18* resistance genes complex

Анализу были подвергнуты образцы пшеницы, показавшие устойчивость к местной популяции желтой и бурой ржавчины (5R–30MR). При использовании праймеров к локусу *csLV34* амплифицировались фрагменты ДНК размером 150 п.н. (в случае сцепления с устойчивым аллелем гена) или 229 п.н. (при сцеплении с восприимчивым аллелем гена *Yr18/Lr34*). Фрагменты, указывающие на присутствие устойчивого аллеля генов *Yr18/Lr34*, выявлены у 6 образцов пшеницы: Рамин, Нуреке, Мереке 70, Майра, Безостая 1 и Алмалы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в связи с угрозой развития эпифитотий ржавчинных болезней необходимо выявление новых доноров устойчивости к желтой и бурой ржавчине и создание на их основе селекционного материала пшеницы. В результате фитопатологической оценки на восприимчивость к ржавчине на инфекционном фоне нами отобран ряд устойчивых образцов к *Puccinia striiformis* и *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*. С использованием молекулярных маркеров, сцепленных с *Yr*- и *Lr*-генами устойчивости, выявлены образцы, несущие эффективные гены устойчивости к желтой и бурой ржавчине пшеницы. На основе молекулярного скрининга и фитопатологической оценки среди изученного материала пшеницы идентифицирован 1 сорт с геном *Yr5*, 5 сортов – с геном *Yr10*, 2 сорта – с геном *Yr15*, 3 генотипа – с комплексом генов устойчивости *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8* и 6 генотипов – с комплексом генов *Yr18/Lr34*. Наиболее ценными донорами устойчивости к ржавчине являются сорта Мереке 70 и Акдан, у которых идентифицировано по 2 гена устойчивости к ржавчине. У сорта Мереке 70 обнаружено присутствие высокоэффективных генов *Yr10* и *Yr18/Lr34*, а у сорта Дастан – генов *Yr10* и *Yr15*. В селекционных питомниках младшего звена изучаются гибриды с участием этих образцов. Для ускорения селекционного процесса нами будет продолжен отбор устойчивых к болезням линий с использованием молекулярных маркеров, сопряженных с этим признаком. Результаты нашей работы создают возможность для перехода селекционного процесса в Казахстане на новый научный уровень за счет применения молекулярно-генетических методов и технологии Marker Assisted Selection.

Выражение благодарности

Авторы выражают благодарность сотрудникам лаборатории генетики и селекции Института биологии и биотехнологии растений, отдела генофонда полевых культур Казахского НИИ земледелия и растениеводства за содействие в проведении исследований. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Республики Казахстан в рамках МЦП ЕвразЭС «Инновационные биотехнологии» на 2012-2014 годы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Официальный сайт FAO (Food and Agriculture Organization – FAO (www.fao.org)).
2. Morgounov A., Abugaliev A., Martynov S. 2013a. Effect of Climate Change and Variety on Long-term Variation of Grain Yield and Quality in Winter Wheat in Kazakhstan // *Cereal Research Communications*. – 2013.
3. Kokhmetova A., Yessenbekova G., Morgounov A., Ogbonnaya F. The screening of wheat germplasm for resistance to stripe and leaf rust in Kazakhstan using molecular markers // *Journal of Life Sciences, USA*. – 2012. – Vol. 6. – №4. – P. 353-362.
4. FAO создала веб-сайт для контроля за распространением ржавчины пшеницы (Rust spore) // <http://www.fao.org/agriculture/crops/rust/stem/en>.
5. Kokhmetova A., Chen X., Rsaliyev S. Identification of *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici*. Characterization of wheat cultivars for resistance, and inheritance of resistance to stripe rust in Kazakhstan wheat cultivars // *The Asian and Australasian Journal of Plant Science and Biotechnology*. – 2010. – Vol. 4. – P. 64-70.
6. Ziyaev Z.M., Sharma R.C., Nazari K. et al. Improving wheat stripe rust resistance in Central Asia and the Caucasus // *Euphytica*. – 2011. – Vol. 179. – P.197-207.
7. Yahaoui A. Management of yellow rust in Central, Western Asia and Caucasus countries // *Newsletter of CIMMYT*. – 2003. – №2(5). – P. 113-116.
8. Животков Л.А., Бирюков С.В., Степаненко А.Я. Пшеница / под ред. Л.А. Животкова. – Киев: Урожай, 1989. – 319 с.
9. Wellings C.R., Park R.F. Global perspectives in wheat yellow rust: meeting the challenges of dynamic shifts in pathogen populations // *Abstr. of 3-rd Regional Yellow Rust Workshop: Tashkent, Uzbekistan, June 8-11*. – 2006.
10. Chen X.M. Epidemiology and control of stripe rust on wheat // *Can J Plant Pathol*. – 2005. – Vol. 27. – С. 314-337.
11. Койшибаев М.К., Пономарева Л.А. Вредоносность болезней яровой пшеницы с воздушно-капельной инфекцией в Северном Казахстане // *Вестн. сельхоз. науки Казахстана*. – 2008. – №8. – С. 15-19.
12. Турапин В.П., Мостовой В.А. Ржавчинные болезни зерновых культур в Республике Казахстан и борьба с ними. – Алматы: ҒЫЛЫМ, 1995. – 141 с.
13. Roelfs A.P., Singh R.P., Saari E.E. *Rust Diseases of Wheat: Concept and methods of disease management*. - Mexico, D.F.: CIMMYT, 1992. – 81 p.
14. Bimb H.P., Johnson R. Breeding resistance to yellow (stripe) rust in wheat. Mexico, DF (Mexico). CIMMYT. Series: CIMMYT Wheat Special Report (WPSR). – 1997. – №41. - 20 p.
15. Kumar J., Singh R.P., Nagarajan S., Sharma A.K. Further evidences on the usefulness of Lr34/Yr18 gene in developing adult plant resistant wheat genotypes // *Wheat Inf. Service*. – 1999. – №89. – P. 23-29.
16. Chen X., Line R., Leung H. Genome scanning for resistance gene analogs in rice, barley, and wheat by high resolution electrophoresis // *Theor. Appl. Genet*. – 1998. – Vol. 97. – P. 345-355.
17. Parlevliet J.E. Strategies for the utilization of partial resistance for the control of cereal rusts. in Simmonds N.W., Rajaram S. (Eds.), *Breeding strategies for resistance to the rusts of wheat*. - Mexico, D.F. CIMMYT, 1988. – P. 48-62.
18. Caldwell R.M. Breeding for general and/or specific plant disease resistance. In K.W. Finlay and K.W. Shepherd (Eds.) *Proc. Int. Wheat Genet. Symp., 3rd, Austr. Acad. Sci., Canberra, Australia. 5-9 Aug. Butterworths, Sydney*. – 1968. – P. 263-272.

19. Singh R.P., Huerta-Espino J., William M. Genetics and Breeding for durable resistance to leaf and stripe rust of wheat. Proc. 1-st Central Asia Wheat conf., Kazakhstan, 10-13 June 2003. – P. 127-132.
20. McIntosh R.A., Dubcovsky J., Rogers J., Morris C., Appels R., Xia X. Catalogue of gene symbols for wheat: 2010 supplement // <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/macgene2010>.
21. Yan G.P., Chen X.M., Line R.F., Wellings C.R. Resistance gene analog polymorphism markers co-segregating with the Yr5 gene for resistance to wheat stripe rust have homology with plant disease resistance genes // Theor. Appl. Genet. – 2003. – Vol. 106(4). – P. 636–643.
22. Chen, X.M., Moore M.K., and Wood D.A. Epidemiology and control of stripe rusts of wheat and barley in the United States. In "Abstracts of 8th Int. Cong. of Plant Pathol. 2–7 Feb. 2003. Christchurch, New Zealand. – Vol. 2. – P. 118.
23. Shi Z.X., Chen X.M., Line R.F., Leung H., Wellings C.R. Development of resistance gene analog polymorphism markers for the Yr9 gene resistance to wheat stripe rust // Genome. – 2001. – Vol. 44. – P. 509-516.
24. Shao Y.T., Niu Y.C., Zhu L.H., Zhai W.X., Xu S.C., Wu L.R. Identification of an AFLP marker linked to the stripe rust resistance gene Yr10 in wheat // Chinese Science Bulletin. – 2001. – Vol. 46(17). – P. 1466-1468.
25. Bariana H.S., Hayden M.J., Ahmed N.U., Bell J.A., Sharp P.J., McIntosh R.A. Mapping of durable adult plant and seedling resistances to stripe rust and stem rust diseases in wheat // Australian Journal of Agricultural Research. – 2001. – Vol. 52(12). – P. 1247–1255.
26. Chen X.M., Moore M., Milus E.A., Long D., Marshall D., Line R.F. and Jackson L. Wheat stripe rust epidemic and races of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in the United States in 2000 // Plant Dis. – 2002. – Vol. 86. – P. 39–46.
27. Singh R.P., Nelson J.C., Sorells M.E. Mapping Yr28 and other genes for resistance to stripe rust in wheat // Crop Sci. – 2000. – Vol. 40(4). – P. 1148-1155.
28. Беспалова Л.А., Васильев А.В., Аблова И.Б., Филобок В.А., Худокормова Ж.Н., Давоян Р.О., Давоян Э.Р., Карлов Г.И., Соловьев А.А., Дивашук М.Г., Майер Н.К., Дудников М.В., Мироненко Н.В., Баранова О.А. Применение молекулярных маркеров в селекции пшеницы в Краснодарском НИИСХ им. П.П. Лукьяненко // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2012. – Т. 16, №1. – С. 37-43.
29. Lagudah, E.S., McFadden H., Singh R.P., Huerta-Espino J., Bariana H.S., Spielmeyer W. Molecular genetic characterization of the Lr34/Yr18 slow rusting resistance gene region in wheat // Theor. Appl. Genet. – 2006. – Vol. 114(1). – P. 21-30.
30. Peterson R.F., Campbell A.B., Hannah A.E. A diagrammatic scale for estimating rust intensity on leaves and stems of cereals // Canadian Journal of Research. – 1948. – Vol. 26c(5). – P. 496–500.
31. Riede C.R., Anderson, J.A. Linkage of RFLP markers to an aluminum tolerance gene in wheat // Crop Sci. – 1996. – Vol. 36(4). – P. 905–909.
32. Chen X., Soria M. A., Yan G., Sun J., Dubcovsky J. Development of sequence tagged site and cleaved amplified polymorphic sequence markers for wheat stripe rust resistance gene Yr5 // Crop Sci. – 2003. – Vol. 43(6). – P. 2058-2064.
33. Peng J.H., Fahima T., Röder M.S., Huang Q.Y., Dahan A., Li Y.C., Grama A., Nevo E. High-density molecular map of chromosome region harboring stripe-rust

resistance genes *YrH52* and *Yr15* derived from wild emmer wheat, *Triticum dicoccoides* // *Genetica*. – 2000. – Vol. 109(3). – P. 199–210.

34. Mago R., Spielmeier W., Lawrence G.J., Lagudah E.S., Ellis J.G., Pryor A. Identification and mapping of molecular markers linked to rust resistance genes located on chromosome 1RS of rye using wheat-rye translocation lines // *Theor. Appl. Genet.* – 2002. – Vol. 104(8). – P. 1317-1324.

35. Macer R.C.F. The formal and monosomic genetic analysis of stripe rust (*Puccinia striiformis*) resistance in wheat. In: IJ. Mackey (ed.) *Proc. of 2nd Int. Wheat Genet. Symp. Lund, Sweden 1963. Hereditas Suppl.* – 1966. – Vol. 2. – P. 127-142.

36. Law C.N. Genetic control of yellow rust resistance in *T. spelta album*. In: *Plant Breeding Institute, Cambridge, Annual Report 1975. – 1976.* – P. 108-109.

37. Metzger R.J., Silbaugh B.A. Inheritance of resistance to stripe rust and its association with glume colour in *Triticum aestivum* L. // *Crop Sci.* – 1970. – Vol. 10. – P. 567–568.

38. Payne P.I., Holt L.M., Johnson R., Snape J.W. Linkage mapping of four gene loci, Glu-B1, Gli-B1, Rgl1 and Yr10 on chromosome 1B of bread wheat // *Genet Agraria.* – 1986. – Vol. 40. – P. 231–242.

39. Wang L.F., Ma J.X., Zhou R.H., Wang X.M. and Jia J.Z. Molecular tagging of the yellow rust resistance gene *Yr10* in common wheat, P.I. 178383 (*Triticum aestivum* L.) // *Euphytica.* – 2002(1). – Vol. 124. – P. 71-73.

40. Gerechter-Amitai Z.K., Van Silfhout C.H., Grama A., Kleitman F. *Yr15*: A new gene for resistance to *Puccinia striiformis* in *Triticum dicoccoides* sel. G-25 // *Euphytica.* – 1989. – Vol. 43(1-2). – P. 187-190.

41. McIntosh R.A., Silk J. Cytogenetic studies in wheat XVII. Monosomic analysis and linkage relationships of gene *Yr15* for resistance to stripe rust // *Euphytica.* – 1996. – Vol. 89(3). – P. 395-399.

42. Disease resistance. Stripe rust. *Yr15*. Wheat Cap <http://maswheat.ucdavis.edu>.

REFERENCES

1. Official site of FAO (Food and Agriculture Organization – FAO (www.fao.org)).

2. Morgounov A., Abugaliev A., Martynov S. 2013a. Effect of Climate Change and Variety on Long-term Variation of Grain Yield and Quality in Winter Wheat in Kazakhstan. *Cereal Research Communications*, 2013. doi: 10.1556/CRC.2013.0047.

3. Kokhmetova A., Yessenbekova G., Morgounov A., Ogbonnaya F. The screening of wheat germplasm for resistance to stripe and leaf rust in Kazakhstan using molecular markers. *Journal of Life Sciences, USA*, 2012, vol. 6, no. 4, pp. 353-362.

4. FAO sozdala veb-sajt dlja kontrolja za rasprostraneniem rzhavchiny pshenicy (Rust spore) [FAO has created a web site to control the spread of wheat rust (Rust spore)] // <http://www.fao.org/agriculture/crops/rust/stem/en>.

5. Kokhmetova A., Chen X., Rsaliyev S. Identification of *Puccinia striiformis* f.sp. tritici. Characterization of wheat cultivars for resistance, and inheritance of resistance to stripe rust in Kazakhstan wheat cultivars. *The Asian and Australasian Journal of Plant Science and Biotechnology*, 2010, vol. 4, pp. 64-70.

6. Ziyayev Z.M., Sharma R.C., Nazari K. et al. Improving wheat stripe rust resistance in Central Asia and the Caucasus. *Euphytica*, 2011, vol. 179, pp. 197-207.

7. Yahaoui A. Management of yellow rust in Central, Western Asia and Caucasus countries. *Newsletter of CIMMYT*, 2003, no. 2(5), pp. 113-116.

8. Zhivotkov L.A., Birjukov S.V., Stepanenko A.Ja. *Pshenica* [Wheat]. Ed. L.A.Zhivotkov. Kiev, Urozhaj [Yield], 1989, 319 p.
9. Wellings C.R., Park R.F. Global perspectives in wheat yellow rust: meeting the challenges of dynamic shifts in pathogen populations. *Abstr. of 3-rd Regional Yellow Rust Workshop*. Tashkent, Uzbekistan, June 8-11, 2006.
10. Chen X.M. Epidemiology and control of stripe rust on wheat. *Can J Plant Pathol*, 2005, vol. 27, pp. 314-337. doi:10.1080/07060660509507230
11. Kojshibaev M.K., Ponomareva L.A. *Vredonosnost' boleznej jarovoj pshenicy s vozdushno-kapel'noj infekciej v Severnom Kazahstane* [Disease severity of spring wheat with droplet infection in Northern Kazakhstan]. *Vestn. sel'hoz. nauki Kazahstana* [Herald of Agricultural Researches in Kazakhstan], 2008, no. 8, pp. 15-19.
12. Turapin V.P., Bridge V.A. *Rust diseases of grain crops in the Republic of Kazakhstan and the fight against them* [Rust diseases of cereals in Republic of Kazakhstan]. Almaty, Gylym [Science], 1995, 141 p.
13. Roelfs A.P., Singh R.P., Saari E.E. *Rust Diseases of Wheat: Concept and methods of disease management*. Mexico, D.F.: CIMMYT, 1992, 81 p.
14. Bimb H.P., Johnson R. *Breeding resistance to yellow (stripe) rust in wheat*. Mexico, DF (Mexico). CIMMYT. Series: CIMMYT Wheat Special Report (WPSR), 1997, no. 41, 20 p.
15. Kumar J., Singh R.P., Nagarajan S., Sharma A.K. Further evidences on the usefulness of Lr34/Yr18 gene in developing adult plant resistant wheat genotypes. *Wheat Inf. Service*, 1999, no. 89, pp. 23-29.
16. Chen X., Line R., Leung H. Genome scanning for resistance gene analogs in rice, barley, and wheat by high resolution electrophoresis. *Theor. Appl. Genet*, 1998, vol. 97, pp. 345-355.
17. Parlevliet J.E. *Strategies for the utilization of partial resistance for the control of cereal rusts*. In Simmonds N.W., Rajaram S. (Eds.), *Breeding strategies for resistance to the rusts of wheat*, Mexico, D.F. CIMMYT, 1988, pp. 48-62.
18. Caldwell R.M. *Breeding for general and/or specific plant disease resistance*. In K.W. Finlay and K.W. Shepherd (Eds.) *Proc. Int. Wheat Genet. Symp., 3rd, Austr. Acad. Sci., Canberra, Australia. 5-9 Aug. Butterworths, Sydney, 1968*, pp. 263-272.
19. Singh R.P., Huerta-Espino J., William M. *Genetics and Breeding for durable resistance to leaf and stripe rust of wheat*. *Proc. 1-st Central Asia Wheat conf., Kazakhstan, 10-13 June, 2003*, pp. 127-132.
20. McIntosh R.A., Dubcovsky J., Rogers J., Morris C., Appels R., Xia X. *Catalogue of gene symbols for wheat: 2010 supplement*. <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/macgene2010>.
21. Yan G.P., Chen X.M., Line R.F., Wellings C.R. Resistance gene analog polymorphism markers co-segregating with the Yr5 gene for resistance to wheat stripe rust have homology with plant disease resistance genes. *Theor. Appl. Genet*, 2003, vol. 106(4), pp. 636-643. doi: 10.1007/s00122-002-1109-8.
22. Chen X.M., Moore M.K. and Wood D.A. *Epidemiology and control of stripe rusts of wheat and barley in the United States*. In "Abstracts of 8th Int. Cong. of Plant Pathol. 2-7 Feb., 2003. Christchurch, New Zealand, vol. 2, pp. 118.
23. Shi Z.X., Chen X.M., Line R.F., Leung H., Wellings C.R. Development of resistance gene analog polymorphism markers for the Yr9 gene resistance to wheat stripe rust. *Genome*, 2001, vol. 44, pp. 509-516. doi: 10.1139/gen-44-4-509.

24. Shao Y.T., Niu Y.C., Zhu L.H., Zhai W.X., Xu S.C., Wu L.R. Identification of an AFLP marker linked to the stripe rust resistance gene Yr10 in wheat. *Chinese Science Bulletin*, 2001, vol. 46(17), pp. 1466-1468.

25. Bariana H.S., Hayden M.J., Ahmed N.U., Bell J.A., Sharp P.J., McIntosh R.A. Mapping of durable adult plant and seedling resistances to stripe rust and stem rust diseases in wheat. *Australian Journal of Agricultural Research*, 2001, vol. 52(12), pp. 1247-1255. doi:10.1071/AR01040.

26. Chen, X.M., Moore M., Milus E.A., Long D., Marshall D., Line R.F., and Jackson L. Wheat stripe rust epidemic and races of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in the United States in 2000. *Plant Dis.*, 2002, vol. 86, pp. 39-46. doi:org/10.1094/PDIS.2002.86.1.39.

27. Singh R.P., Nelson J.C., Sorells M.E. Mapping Yr28 and other genes for resistance to stripe rust in wheat. *Crop Sci.*, 2000, vol. 40(4), pp. 1148-1155. doi:10.2135/cropsci2000.4041148x.

28. Bespalova L.A., Vasilev A.V., Ablova I.B., Filobok V.A., Hudokormova Zh.N., Davojan R.O., Davojan Je.R., Karlov G.I., Solov'ev A.A., Divashuk M.G., Majer N.K., Dudnikov M.V., Mironenko N.V., Baranova O.A. Primenenie molekuljarnyh markerov v selekcii pshenicy v Krasnodarskom NIISH im. P.P. Lukjanenko [Use of molecular markers in wheat breeding at the Krasnodar Lukyanenko Research Institute of Agriculture]. *Vavilovskij zhurnal genetiki i selekcii – Vavilov's Journal of Genetics and Breeding*, 2012, vol. 16. no. 1, pp. 37-43.

29. Lagudah, E.S., McFadden H., Singh R.P., Huerta-Espino J., Bariana H.S., Spielmeyer W. Molecular genetic characterization of the Lr34/Yr18 slow rusting resistance gene region in wheat. *Theor. Appl. Genet.*, 2006, vol. 114(1), pp. 21-30. doi: 10.1007/s00122-006-0406-z.

30. Peterson R.F., Campbell A.B., Hannah A.E. A diagrammatic scale for estimating rust intensity on leaves and stems of cereals. *Canadian Journal of Research*, 1948, vol. 26c(5), pp. 496-500.

31. Riede C.R., Anderson, J.A. Linkage of RFLP markers to an aluminum tolerance gene in wheat. *Crop Sci.*, 1996, vol. 36(4), pp. 905-909. doi:10.2135/cropsci1996.0011183X0036000400015x

32. Chen X., Soria M. A., Yan G., Sun J., Dubcovsky J. Development of sequence tagged site and cleaved amplified polymorphic sequence markers for wheat stripe rust resistance gene Yr5. *Crop Sci.*, 2003, vol. 43(6), pp. 2058-2064. doi:10.2135/cropsci2003.2058.

33. Peng J.H., Fahima T., Röder M.S., Huang Q.Y., Dahan A., Li Y.C., Grama A., Nevo E. High-density molecular map of chromosome region harboring stripe-rust resistance genes YrH52 and Yr15 derived from wild emmer wheat, *Triticum dicoccoides*. *Genetica*, 2000, vol. 109(3), pp. 199-210.

34. Mago R., Spielmeyer W., Lawrence G.J., Lagudah E.S., Ellis J.G., Pryor A. Identification and mapping of molecular markers linked to rust resistance genes located on chromosome 1RS of rye using wheat-rye translocation lines. *Theor. Appl. Genet.*, 2002, vol. 104(8), pp. 1317-1324. doi: 10.1007/s00122-002-0879-3.

35. Macer R.C.F. The formal and monosomic genetic analysis of stripe rust (*Puccinia striiformis*) resistance in wheat. In: IJ. Mackey (ed.) Proc. of 2nd Int. Wheat Genet. Symp. Lund, Sweden 1963. *Hereditas Suppl.*, 1966, vol. 2, pp. 127-142.

36. Law C.N. Genetic control of yellow rust resistance in *T. spelta album*. In: Plant Breeding Institute, Cambridge, Annual Report 1975, 1976, pp. 108-109.

37. Metzger R.J., Silbaugh B.A. Inheritance of resistance to stripe rust and its association with glume colour in *Triticum aestivum* L. *Crop Sci.*, 1970, vol. 10, pp. 567–568. doi:10.2135/cropsci1970.0011183X001000050035x.

38. Payne P.I., Holt L.M., Johnson R., Snape J.W. Linkage mapping of four gene loci, Glu-B1, Gli-B1, Rgl1 and Yr10 on chromosome 1B of bread wheat. *Genet Agraria*, 1986, vol. 40, pp. 231–242.

39. Wang L.F., Ma J.X., Zhou R.H., Wang X.M. and Jia J.Z. Molecular tagging of the yellow rust resistance gene Yr10 in common wheat, P.I. 178383 (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica*, 2002(1), vol. 124, pp. 71-73.

40. Gerechter-Amitai Z.K., Van Silfhout C.H., Grama A., Kleitman F. Yr15: A new gene for resistance to *Puccinia striiformis* in *Triticum dicoccoides* sel. G-25. *Euphytica*, 1989, vol. 43(1-2), pp. 187-190.

41. McIntosh R.A., Silk J. Cytogenetic studies in wheat XVII. Monosomic analysis and linkage relationships of gene Yr15 for resistance to stripe rust. *Euphytica*, 1996, vol. 89(3), pp. 395-399.

42. Disease resistance. Stripe rust. Yr15. Wheat Cap <http://maswheat.ucdavis.edu>.

ТҮЙІН

Бидайдың тат аурулары - осы дақылдың өнімділігін төмендетуінің негізгі себептерінің бірі. Сондықтан тат аурулармен күресудің ең нәтижелі әдісі – бидай өнімін генетикалық тұрғыдан қорғау. Бидайдың сары (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) және қоңыр (*Puccinia recondita* Rob. et Desm f. *tritici* Erikss) тат түрлері өнімнің сапасымен өнімділігін төмендетіп, қауіпті экономикалық шығын келтіретін кеңінен таралған аса қауіпті ауруларының бірі болып табылады. Генетикалық төзімді сорттарды қолдану тат ауруынан өнім шығынын төмендетіп, фунгицидтерді қолдануды жойып немесе төмендететін ауруды бақылаудың тиімді, экономикалық және экологиялық сенімді әдістерінің бірі болып табылады. Тат ауруларының эпифитотиялық даму қаупіне байланысты қоңыр және сары татқа төзімді жаңа донорларды шығарып, солардың негізінде бидайдың селекциялық материалдарын ұйымдастыру. Инфекциялық фонда татқа төзімсіздерге фитопатологиялық бағалау жүргізу негізінде біздің тарапымыздан *Puccinia striiformis* және *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* ауруларына бірқатар төзімді үлгілер таңдалып алынды. Қазіргі таңда молекулалық генетика, фитопатология және дәстүрлі сұрыптау әдістерін қолданып, жоғары өнім беретін, төзімді бидай сорттарын шығаруда. Зерттеу жұмысында бидай гермоплазмасының молекулалық скринингі үрдісінде идентификацияланған сары және қоңыр татқа төзімді тиімді гендердің бір қатарына: Yr5, Yr10 Yr15 сонымен қатар Lr26/Sr31/Yr9/Pm8 және Yr18/Lr34 гендердің кешеніне назар аударылды. Молекулалық маркерлерді қолдану барысында Yr5 гені 1 үлгіде, Yr10 – 5 үлгіде, Yr15 – 2 үлгіде, гендердің кешенінен Lr26/Sr31/Yr9/Pm8 – 3 үлгіде және Yr18/Lr34 – 6 үлгіде идентификацияланды. Мереке 70 және Ақдан сорттары татқа қарсы тұратын ең құнды донорлар деп есептеледі, өйткені генотиптерінде 2 татқа төзімді гендер идентификацияланды. Мереке 70 сортында жоғары деңгейде эффективті Yr10 және Yr18/Lr34 гендер табылса, Дастан сортының құрамында Yr10 және Yr15 гендері бар екені дәлелденді. Алынған нәтижелерді Қазақстанда Marker Assisted Selection технология арқылы сары және қоңыр татқа төзімді бидай сорттарын шығару үшін қолдануға болады.

Кілтті сөздер: бидай, төзімді гендер, сары тат, қоңыр тат, молекулалық маркерлер.