

С.Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университетінің **Ғылым жаршысы** (пәнаралық) = **Вестник науки** Казахского агротехнического университета им. С.Сейфуллина (междисциплинарный). - 2019. - №3 (102). - С.111-123

МОЛЕКУЛЯРНОЕ МАРКИРОВАНИЕ ГЕНОТИПОВ ТРИТИКАЛЕ ПО УСТОЙЧИВОСТИ К СТЕБЛЕВОЙ И БУРОЙ РЖАВЧИНЕ

Базылова Т.А., Абекова А.М.,
Ержебаева Р.С.

ТОО «Казахский научно-исследовательский институт земледелия и растениеводства»

Аннотация

Селекционные линии питомника СП-2 оценены на устойчивость к бурой и стеблевой ржавчине с использованием методов фитопатологии и ДНК-маркеров. Молекулярно-генетическое маркирование 64-х селекционных образцов тритикале по устойчивости к стеблевой и бурой ржавчине позволило выделить линии тритикале имеющие комплекс генов *Sr2*, *Sr22*, *Lr28* и ржаной транслокации *1BL/1RS/1AL1RS*. Сопоставление данных ДНК-маркирования и иммунологической оценки показало, что 9 линий селекционного питомника СП-2 (243/2416, 2301, 2382, 2214, 2266, 2222, 2312, 2232 и 2190) подтвердили свою высокую устойчивость в полевых условиях на инфекционном фоне.

Ключевые слова: тритикале, стеблевая ржавчина, бурая ржавчина, ПЦР, молекулярные маркеры, ген, ДНК.

Введение

Тритикале (*Triticosecale Wittmackel. Camus*, отлат.*Triticum*-пшеница и лат.*Secale*-рожь) – гибридный род злаков, гибридржи и пшеницы. Это первая искусственно созданная человеком зерновая культура [1].

Тритикале может стать основой для создания кормовой базы животноводства, которая является целевым индикатором программы развития агропромышленного комплекса Казахстана. Растущий интерес к этой культуре в мире и в нашей стране вызван большими ее

возможностями в связи с изменением климата. В тритикале сочетаются многие ценные признаки: высокая урожайность, зимостойкость, засухоустойчивость, толерантность к почвам, устойчивость к болезням, формирование значительной вегетативной массы, пригодной для использования в виде высококачественного зеленого корма.

Главной задачей молекулярно-генетического исследования сегодня является использование теоретических обобщений для

разработки ДНК-технологий и внедрение в селекцию тритикале. Именно с ПЦР-маркеров началось широкое внедрение ДНК-маркеров в селекционный процесс. С помощью молекулярных маркеров можно проводить отбор по генотипу, тогда как в традиционной селекции отбор индивидуумов для скрещиваний осуществляется на основе анализа фенотипа. Отбор по генотипу имеет ряд преимуществ по сравнению с отбором по фенотипу. На результаты фенотипирования влияют различные факторы окружающей среды. Генотипне зависит от изменения условий среды. Если отбор ведется на основании анализа фенотипа, то при полном доминировании невозможно отличить доминантные гомозиготы от гетерозигот и, следовательно, выбрать индивидуумы для скрещивания в текущем поколении[2].

Использование генетически устойчивых сортов является наиболее экономически и экологически эффективным методом контроля болезней, позволяющим снизить применение фунгицидов и свести к минимуму потери урожая от заболеваний. Тритикале поражается физиологическими формами ржавчинных заболеваний пшеницы: бурой (*Puccinia*

reconditritricina Erikss.) и стеблевой (*Puccinia graminis* Erikss.) ржавчиной[3].

Стеблевая и бурая ржавчины поражают зерновые культуры - пшеницу, тритикале, рожь, ячмень и овес. Вредоносность стеблевой и бурой ржавчины зависит от выносливости сорта, сроков заражения растений и интенсивности развития болезни. Поиск новых генов устойчивости к возбудителям ржавчины – основная задача, стоящая перед селекционерами во всем мире. Источником этих генов служат близкородственные виды пшеницы.

По данным каталога генных символов, до настоящего времени опубликовано около 80 генов устойчивости пшеницы к бурой ржавчине *Lr* с постоянными и временными символами [4]. По данным СИММИТ(СИММУТ), известно более 50 генов устойчивости к стеблевой ржавчине *Sr* [5].

Целью исследований являлось идентификация 64 селекционных образцов озимого тритикале по генам устойчивости к стеблевой и бурой ржавчине с использованием ДНК-маркеров.

Материалы и методика исследований

Материалом исследований служили 64 образца озимого тритикале селекционного питомника 2-го года (СП-2) отдела зерновых культур ТОО «Казахского научно-исследовательского института земледелия и растениеводства (КазНИИЗиР). В

качестве положительных контролей использованы изогенные линии пшеницы, полученные из лаборатории иммунитета и защиты растений КазНИИЗиР.

Выделение геномной ДНК из 7-дневных проростков озимого тритикале проведенос

использованием методики *DeLaporta*[6].

Для идентификации носителей генов устойчивости к ржавчине у образцов тритикале применен метод полимеразной цепной реакции (ПЦР). ПЦР-анализ проведен в амплификаторе Eppendorf Mastercycler (Германия).

При исследовании использованы наборы реагентов компаний Thermo-Fisher Scientific (PCR Master Mix). Реакционная среда для ПЦР-амплификации состояла из следующих компонентов: 2 мкл (50 ng) исследуемой ДНК, 2 мкл реакционного буфера (10 × Taq-Buffer), 1 мкл dNTP (4 mM) смесь из четырех dNTP, 250 μM каждого из двух праймеров, 2 мкл (25 mM) MgCl₂, 0,5 мкл (5u/μl) Taq-полимеразы GenLab (РГП

«Национальный Центр Биотехнологии», г. Нур-Султан). Разделение продуктов амплификации проведено в 1,5-2% агарозных гелях, окрашенных бромистым этидием. В качестве маркеров молекулярных весов использован GeneRuler 100bp и 50bp DNA Ladder (Thermo-Fisher Scientific).

Для получения высококачественного изображения гелевых электрофореграмм и оценки ПЦР-продукта использована геледокументирующая камера QUANTUM-ST4 (Франция).

На основании анализа научной литературы по эффективным генам устойчивости к стеблевой и бурой ржавчине подобраны 5 молекулярных маркеров (таблица 1).

Таблица 1 – Происхождение генов устойчивости к стеблевой и бурой ржавчине, источники генов, молекулярные маркеры и размеры продукта ПЦР

Ген	Локализация	Источник гена	Молекулярный маркер		Размер продукта ПЦР, п.н.	Литературный источник
			Название	Нуклеотидная последовательность		
<i>Sr2</i>	3BS	<i>Triticum turgidum</i>	GWM 533F GWM533R	5' GTTGCTTTAGG GGAAAAGCC 5' AAGGCGAATCA AACGGAATA	120	Hayden et al., 2004[7]
<i>Sr22</i>	7AL	<i>Triticum monoccum</i>	CFA2123F CFA2123R	5' CGGTCTTTGTTT GCTCTAAACC 5' ACCGGCCATCT ATGATGAAG	245/260	Khan et al, 2005 [8]
<i>Lr28</i>	4AL	<i>Aegilops speltoids</i>	Lr28-01 Lr28-02	5' CCCGGCATAAG TCTATGGTT 5' CAATGAATGAG ATACGTGAA	378	Naik et al., 1998 [9]
<i>Lr9</i>	6BL	<i>Aegilops umbelluata</i>	J13/1 J13/2	5' TCSTTTTATTCC GCACGCCGG 5' CCACACTACCC CAAAGAGACG	1100	Schachermayer et al., 1994 [10]
<i>1BL.1RS /1AL.1RS</i>	1RS	<i>Secale cereale</i>	SCM9F SCM9R	5' TGACAACCCCC TTTCCCTCGT 5' TCATCGACGCT AAGGAGGACCC	207	Weng et al., 2007[11]

Для ДНК маркирования образцов тритикале по устойчивости к стеблевой ржавчине были побраны 2 эффективных гена *Sr*: *Sr2* и *Sr22*, которые локализованы в геномах А и В, и могут присутствовать в тритикале [8,12]. Для идентификации генов устойчивости к бурой ржавчине подобраны 3 гена: *Lr9*, *Lr28* и ржаная транслокация *1BL.1RS/1AL.1RS*, несущая гены *Lr26/Sr31* [9,10,11].

Инокулюм в вакуумных ампулах со спорами вирулентной популяции бурой и стеблевой ржавчины был получен из Научно-исследовательского института проблем биологической безопасности (г. Отар). Оценка по устойчивости линий на естественном фоне проведена на научном полевом стационаре отдела зерновых культур КазНИИЗиР. Оценка на инфекционном поле проведена лабораторией иммунитета и защиты растений КазНИИЗиР.

Оценка типа реакции растений на заражение проведена по шкалам листовой [13] и

Результаты исследований

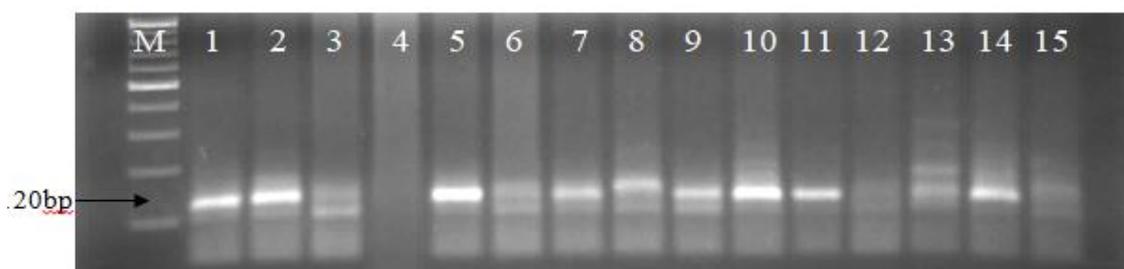
Идентификация гена *Sr2*. *Sr2* представляет собой ген устойчивости к стеблевой ржавчине, который является эффективным против расы стеблевой ржавчины Ug99. Для идентификации гена *Sr2* (происходящего от *T. turgidum*) был использован SSR-маркер GWM533F [7] (Рисунок 1). В качестве положительного контроля был использован образец пшеницы Pavon76. Ген *Sr2*

стеблевой [14] ржавчин, степень поражения листа и стебля по шкале Кобба [15].

Оценка развития к болезням стеблевой и бурой ржавчины проведена в фазу молочно-восковой спелости, по принятой стандартной методике в ФАО и СИММИТ. Был применена следующая шкала: R, Resistant – устойчивый тип, 1 балл, поражение 5%; MR, Moderately resistant – относительно устойчивый тип, 2 балла, поражение до 10-30%; MS, Moderately susceptible – относительно восприимчивый тип, 3 балла, поражение до 40-50%; S, Susceptible, восприимчивый тип, 4 балла, поражение более 60% [16].

Статистическая обработка выполнена на языке программирования R (R version 3.2.3 (2015-12-10) -- "WoodenChristmas-Tree") с открытым исходным кодом центром цифровых технологий ТОО «КазНИИЗиР». Проведен статистический метод – Хи-квадрат, позволяющий выявлять зависимость частоты исходов от фактора.

локализован на коротком плече хромосомы 3BS. Известно, что наследование гена *Sr2* носит рецессивный характер, что усложняет отбор устойчивых растений по фенотипу. Однако уровень защитного ответа может зависеть от генетического окружения, условий внешней среды и инфекционной нагрузки у растений тритикале.



1. Контроль - Sr2; 2. 2213; 3. 2203; 4. 2439; 5. 2402; 6. 2214; 7. 2256; 8. 2273; 9. 2342; 10. 2308; 11. 2352; 12. 2242; 13. 2350; 14. 2455; 15. 2266.

Рисунок 1 – Продукты амплификации ДНК образцов озимого тритикале с использованием маркера GWM 533F, сцепленного с Sr2. М - маркер 100 bp;

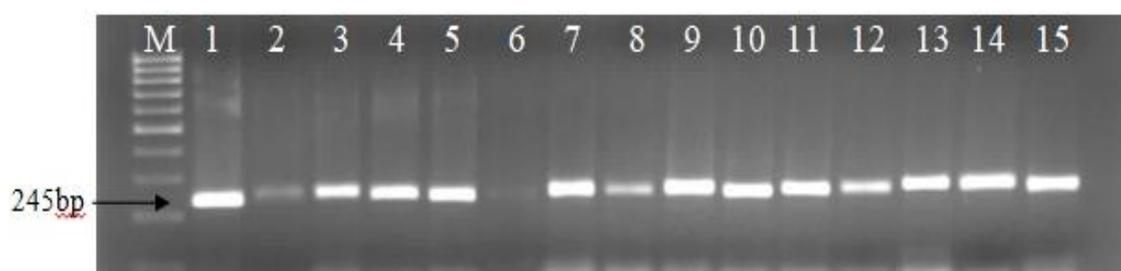
Ожидаемый размер фрагмента амплификации для диагностического маркера Xgwm533 (120 п.н.) зафиксирован у 57 изучаемых образцов тритикале. У 7 образцов (285/2456, 186/2362, 2439, 2278, 2231, 2216, 2237) фрагмент амплификации размером 120 п.н. отсутствовал.

Идентификация гена Sr22. Ген Sr22 локализован в хромосоме 7AL, источником которого является диплоидный вид *T. monosocum*. Для идентификации этого гена

продукт амплификации соответствовал длине 260 п.н.

использовали молекулярный маркер CFA2123 с размером фрагмента амплификации 245 п.н. [8] (Рисунок 2). В качестве положительного контроля был использован образец пшеницы: Little Club / Sr18 Mg Marguis A.

ПЦР-анализ тритикале на Sr22 с SSR маркером CFA2123 показал, что из 64 образцов тритикале только у 15 образцов размер амплифицированного продукта составил 245 п.н., у 49 образцов тритикале



М - маркер 100 bp; 1. Sr-22 (Little Club / Sr18 Mg Marguis A); 2. 2222; 3. 2312; 4. 2287; 5. 2384; 6. 2278; 7. Таза (St); 8. 2232; 9. 2188; 10. 2228; 11. 2192; 12. 2194; 13. 2189; 14. 2268; 15. 2223.

Рисунок 2 – Продукты амплификации ДНК образцов озимого тритикале с использованием маркера CFA2123, сцепленного с Sr22.

Таким образом, молекулярно-генетическое маркирование генотипов озимого тритикале по устойчивости к стеблевой ржавчине позволило выявить 14 линий

тритикале несущие эффективные аллели генов *Sr2u* Sr22: 243/2416, 2301, 2201, 2211, 2382, 2402, 2214, 2455, 2266, 2222, 2312, 2384, 2232, 2190.

Для идентификации эффективных генов устойчивости к бурой ржавчине (*Lr28* и *Lr9*) у 64 селекционных линий озимого тритикале проведен ПЦР анализ с помощью молекулярных маркеров: *J13*[10] и *Lr28-01*[9].

Идентификация гена Lr28. Ген *Lr28* относится к группе эффективных генов, защищающих растения пшеницы и тритикале от поражения бурой ржавчиной в различных регионах мира[17,18,19]. Источником

этого гена является диплоидный вид *Aegilopsspeltoides* Tausch.

Для идентификации носителей гена *Lr28* устойчивости к бурой ржавчине использован *STS*-маркер *Lr28-01*, тесно сцепленный с *Lr28*[9]. Положительным контролем служила линия CS2D-2M. Проведение ПЦР анализа с использованием указанного маркера показало, что у 50 из 64 изучаемых образцов присутствует характерный фрагмент размером 378 п.н. (Рисунок 3).

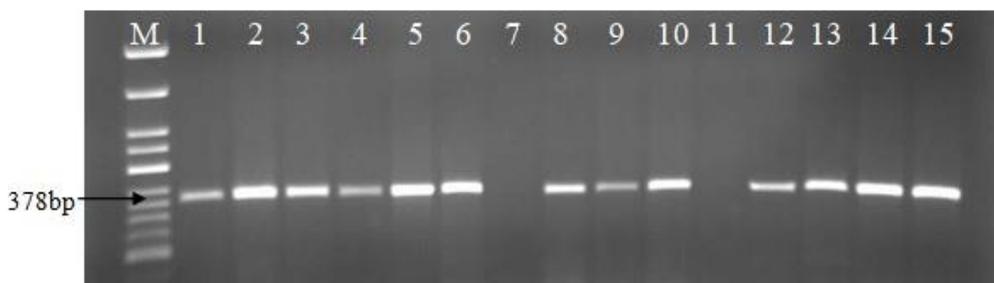
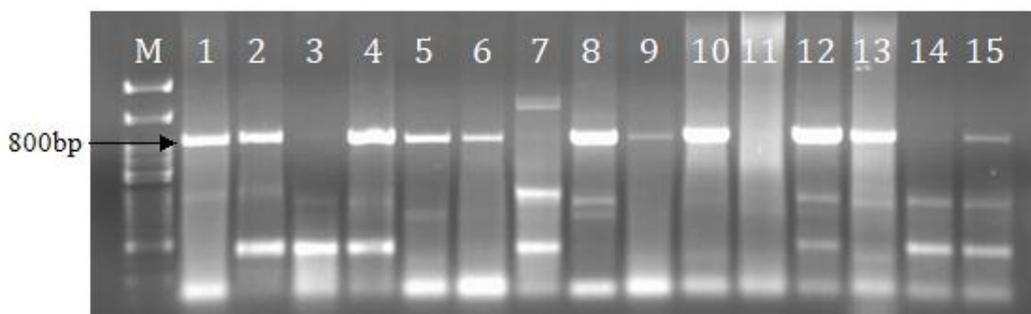


Рисунок 3 – Продукты амплификации ДНК образцов тритикале с использованием маркера *Lr28*, сцепленного с геном *Lr28*. М - маркер 1500 bp; 1. Изогенная линия *Lr28* (контроль); 2. 2402; 3. 2214; 4. 2256; 5. 2273; 6. 2342; 7. 2308; 8. 2352; 9. 2242; 10. 2350; 11. 2455; 12. 2266; 13. 2222; 14. 2312; 15. 2287.

Идентификация гена Lr9. ПЦР анализ по выявлению носителей гена *Lr9* с использованием маркера *J13*[10] показал, что амплификация ожидаемого фрагмента с длиной 1100 п.н. не происходила у изучаемых линий. У линии Transfer/6*ТС (RL6010),

используемой в качестве положительного контроля у 47 линий отмечена амплификация фрагмента длиной 850 п.н. (Рисунок 4). У 17 образцов амплифицировались другие фрагменты.



М-маркер 1500(50step) , 1.Контроль *Lr9*, 2.*Chinese spring*, 3.2350, 4.2455, 5.2266, 6.2222, 7.2312, 8.2287, 9.2384, 10.2278, 11. Таза (St), 12.2232, 13. 2188, 14.2228, 15.2192
 Рисунок 4 – Продукты амплификации ДНК образцов тритикале с использованием маркера J13, сцепленного с геном *Lr9*.

Роль ржаного генома в селекции тритикале на устойчивость к бурой ржавчине определяется аллелями отдельных R хромосом. Известно, что рожь является источником генов устойчивости к бурой ржавчине – *Lr25*, *Lr26* и *Lr45*. Они перенесены в генотип тритикале с сегментами ржаных хромосом. В связи с широким

ПЦР анализ 64 линий озимого тритикалена обнаружение ржаной транслокации

ее присутствие у всех анализируемых линий длиной фрагмента 207 п.н.

Результаты ДНК-идентификации селекционных линий тритикале по генам устойчивости к бурой и стеблевой ржавчинам представлены в таблице 2.

использованием хромосомных замещений и транслокаций в целях уменьшения доли генетического материала ржи [21,22] в тритикале могут отсутствовать указанные гены. В связи с этим проведены исследования по идентификации наличия данных транслокаций в селекционных линиях тритикале ТОО «КазНИИЗиР».

1BL.1RS/1AL.1RS с помощью маркера *SCM9* показал

Таблица 2 – Результаты ДНК-анализа и иммунологической оценки линий озимого тритикале по устойчивости к бурой и стеблевой ржавчинам

Гены	<i>Sr2</i>	<i>Sr22</i>	<i>Lr28</i>	<i>Lr9</i>		<i>1Bl.1RS1AL.1RS</i>	Поражаемость бурой ржавчиной, % /тип реакции		Поражаемость стеблевой ржавчиной, % /тип реакции	
Маркер	<i>Xgwm 533</i>	<i>CFA2123</i>	<i>Lr28</i>	<i>J13</i>		<i>SCM9</i>	на инфекционном фоне	на естественном фоне	на инфекционном фоне	на естественном фоне
Размер ожид. амп.фраг., п.н.	120	245	378	1100 ожид.	850	207				
285/2456	-	-	+	-	+	+	70MS	0R	30S	5R
234/2408	+	-	+	-	+	+	50S	5R	-	5R
50/2233	+	-	+	-	+	+	10MS	5R	5MR	5R
86/2267	+	-	+	-	+	+	10S	0R	30MS	0R
94/2275	+	-	+	-	+	+	5R	0R	5R	0R
196/2372	+	-	+	-	-	+	10MR	5R	5R	5R
231/2405	+	-	+	-	-	+	30MS	5R	10MR	5R
240/2414	+	-	-	-	+	+	40MR	5R	5MR	5R
128/2307	+	-	-	-	+	+	30S	0R	5MR	0R
214/2389	+	-	-	-	+	+	10MS	5R	5MR	5R
93/2274	+	-	+	-	-	+	-	0R	-	0R
286/2457	+	-	+	-	+	+	5MS	5R	10MS	5R
232/2406	+	-	+	-	-	+	10MR	0R	10MR	0R
186/2362	-	-	+	-	+	+	5MS	0R	-	0R
243/2416	+	+	+	-	-	+	5R	5R	10R	5R
2424	+	-	+	-	+	+	5R	10 MR	5R	5R
2335	+	-	+	-	-	+	20S	0R	5MR	0R
2441	+	-	+	-	+	+	-	5R	10MR	5R
2301	+	+	+	-	-	+	5R	5R	5MR	5R
2201	+	+	-	-	-	+	30S	5R	5R	5R
2211	+	+	-	-	+	+	10MR	0R	10MR	0R
2382	+	+	+	-	+	+	10MR	5R	10MR	0R
2442	+	-	+	-	+	+	20MS	5R	20MS	10R
2200	+	-	+	-	-	+	-	0R	10MR	0R
2215	+	-	+	-	+	+	10R	0R	20MR	0R
2220	+	-	-	-	+	+	10MS	5R	-	5R
2296	+	-	+	-	-	+	5R	5R	30R	5R
2295	+	-	+	-	+	+	20R	5R	30MR	0R
2213	+	-	-	-	+	+	20MS	0R	10MR	0R

2203	+	-	+	-	+	+	10S	5R	5MR	5R
2439	-	+	+	-	+	+	-	0R	-	5R
2402	+	+	+	-	+	+	20S	5R	10MR	5R
2214	+	+	+	-	+	+	10MS	0R	-	0R
2256	+	-	+	-	+	+	-	0R	-	5R
2273	+	-	+	-	+	+	5R	5R	5R	0R
2342	+	-	+	-	+	+	-	5R	-	5R
2308	+	-	-	-	-	+	5MR	0R	5MR	0R
2352	+	-	+	-	+	+	5MR	5R	-	0R
2242	+	-	+	-	+	+	-	5R	-	5R
2350	+	-	+	-	+	+	-	5R	-	5R
2455	+	+	-	-	+	+	10MR	0R	5MR	0R
2266	+	+	+	-	+	+	-	5R	-	5R
2222	+	+	+	-	+	+	5MS	5R	5R	5R
2312	+	+	+	-	+	+	10MR	0R	5R	5R
2287	+	-	+	-	+	+	-	0R	20MS	0R
2384	+	+	-	-	+	+	-	5R	-	5R
2278	-	-	+	-	+	+	-	5R	-	5R
Таза (Standart)	+	-	+	-	-	+	5MS	5R	-	0R
2232	+	+	+	-	+	+	-	0R	-	0R
2188	+	-	-	-	+	+	10MS	5R	5MR	5R
2228	+	-	+	-	-	+	15MS	0R	-	5R
2192	+	-	+	-	+	+	-	5R	-	5R
2194	+	-	+	-	-	+	10MR	0R	5MR	0R
2189	+	-	-	-	+	+	-	0R	10MR	5R
2268	+	-	+	-	+	+	-	5R	-	0R
2223	+	-	+	-	+	+	-	5R	5R	5R
2190	+	+	+	-	+	+	-	0R	5R	0R
2187	+	-	+	-	+	+	-	5R	5MR	0R
2231	-	-	+	-	+	+	-	5R	-	5R
2206	+	-	-	-	-	+	80MS	5R	10MR	5R
2252	+	-	+	-	+	+	5R	0R	10R	0R
2216	-	-	+	-	-	+	20MS	5R	30S	5R
2202	+	-	+	-	+	+	-	5R	-	5R
2237	-	+	+	-	+	+	60S	5R	20S	5R
Всего	57	15	50	0	47	64				

Молекулярный анализ линий питомника СП-2 показал, что из 64 линий тритикале выделено 10 линий, несущих 3 эффективных гена *Lr28*, *Sr2*, *Sr22* и ржаную транслокацию (243/2416, 2301, 2382, 2402, 2214, 2266, 2222, 2312, 2232 и 2190).

Иммунологическая оценка устойчивости 64 линий тритикале питомника СП-2 к двум видам ржавчины (бурая и стеблевая) проведена в полевых условиях на естественном фоне стационара отдела зерновых культур на искусственном инфекционном фоне лаборатории иммунитета и защиты растений. Анализ 64 линий на естественном полевом фоне показал, что все изучаемые линии проявили устойчивость к бурой и стеблевой ржавчине в пределах типа реакции R и процентом поражения 0-5% (таблица 2).

Оценка на искусственно-созданном инфекционном фоне из питомника СП-2 позволила выделить 7 линий устойчивых к бурой ржавчине и 9 линий устойчивых к стеблевой ржавчине (5R). Таким образом, по результатам оценки на устойчивость к бурой ржавчине и стеблевой ржавчине на естественном и созданном искусственном инфекционном фоне к группе высокоустойчивых отнесены 16 линий из питомника СП-2.

Для анализа влияния наличия эффективных генов на устойчивость селекционных линий к ржавчине на инфекционном фоне был использован статистический метод – Хи-квадрат, позволяющий выявлять зависимость частоты исходов от фактора, таблица 3. Были сопоставлены данные наличия гена и иммунологической оценки на инфекционном фоне.

Таблица 3 – Результаты статистической обработки данных иммунологической оценки и ДНК-идентификации с использованием Хи-квадрата

Зависимость	Значение Хи-квадрат	Степень свободы	p-value
<i>Стеблевая ржавчина</i>			
Влияние гена <i>Sr22</i> на тип реакции линий	2,76	3	0,428
Влияние гена <i>Sr22</i> на процент поражения линий	2,71	3	0,437
Влияние гена <i>Sr2</i> на тип реакции линий	1,09	3	0,779
Влияние гена <i>Sr2</i> на процент поражения линий	11,56	3	0,009
<i>Бурая ржавчина</i>			
Влияние гена <i>Lr28</i> на тип реакции линий	4,984	3	0,172
Влияние гена <i>Lr28</i> на процент поражения линий	10,233	7	0,175

Исходя из результатов таблицы, мы можем сказать, что достоверная зависимость вклада гена на иммунитет растений

наблюдается только по гену *Sr2* (p -value = 0,009). В остальных случаях достоверность не превышает 0,05.

Сопоставление данных ДНК-маркирования и иммунологической оценки показало, что 9 линий СП-2

Заключение

Молекулярно-генетическое маркирование генотипов тритикале по устойчивости к бурой и стеблевой ржавчине показало, что 9 линий озимого тритикале устойчивые к бурой и стеблевой ржавчине на инфекционном фоне имеют комплекс генов *Sr2*, *Sr22*, *Lr28*, и *IBL.1RS/1AL.1RS* (243/2416, 2301, 2382, 2214, 2266, 2222, 2312, 2232 и 2190).

(243/2416, 2301, 2382, 2214, 2266, 2222, 2312, 2232 и 2190) подтвердили свою высокую устойчивость в полевых условиях на инфекционном фоне.

Установлено, что присутствие гена *Sr2* в селекционных линиях тритикале обеспечивало низкий процент поражения стеблевой ржавчиной.

Все выделенные по молекулярно-генетическому маркированию генотипы озимого тритикале будут рекомендованы селекционерам для отбора по селекции на устойчивость к бурой и стеблевой ржавчине.

Список литературы:

1 Справочник, сельское хозяйство, зерновые культуры тритикале. [Электрон. ресурс]. URL: <http://www.ukragroconsult.com/partnerstvo/spravochnik/selskoehozyaistvo/zernovyekultury/triticaele>.

2 Хлесткина Е.К. Молекулярные маркеры в генетических исследованиях и в селекции // Вавиловский журнал генетики и селекции. - 2013. - Т.17, №4/2.- С.1044-1054.

3 Койшибаев М. Роль устойчивых к болезням сортов в интегрированной защите пшеницы // Защита и карантин растений. - 2010. - №3. - С.30-33.

4 McIntosh R.A., Dubcovsky J., Rogers W.J., Morris C., Appels R., Xia X.C. 2009. Catalogue of gene symbols for wheat: 2009 supplement / Komugi. Integrated Wheat Science Database. Available 2009. URL: <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/macgene/supplement>.

5 Singh R.P., Hodson D.P., Jin Y., Huerta-Espino J., Kinyua M.G., Wanyera R., Njau P., Ward R.W. Current status, likely migration and strategies to mitigate the threat to wheat production from race Ug99 (TTKS) of stem rust pathogen. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science // Nutrition and Natural Resources. - 2006. - Vol. 1(054). DOI: 10.1079/PAVSNNR20061054

6 De Laporta S.L., Wood J., Hicks J.B. A plant DNA mini-preparation. Version II // Plant Mol. Biol. Rep. - 1983. - Vol.4.-P.19-21.

7 Hayden M.J., Kuchel H., Chalmers K.J. Sequence tagged microsatellites for the *Xgwm533* locus provide new diagnostic markers to select for the presence of stem rust resistance gene *Sr2* in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) // Theor. Appl. Genet. - 2004. - Vol. 109. - P.1641-1647. DOI: 10.1007/s00122-004-1787-5

8 Khan R.R., Bariana H.S., Dholakia B.B., Naik S.V., Lagu M.D. Rathjen A.J., Bhavani S., Gupta V.S. Molecular mapping of stem and leaf rust resistance in wheat // *Theor. Appl. Genet.* - 2005. - Vol. 111. - P. 846-850.

9 Naik S., Gill K.S., Rao V.S. et al. Identification of a STS marker linked to an *Aegilops speltoides* – derived leaf rust resistance gene Lr28 in wheat // *Theor. Appl. Genet.* - 1998. – Vol. 97. - P.535-540.

10 Schachermayr G.M., Siwiler H., Gale M.D., Winzeler H., Winzeler M., Keller B. Identification and localization of molecular markers linked to the Lr9 leaf rust resistance gene of wheat // *Theor. Appl. Genet.* - 1994. – Vol.88. – P.110-115

11 Weng, Y., P. Azhaguvel, R. N. Devkota, and J. C. Rudd PCR-based markers for detection of different sources of 1AL.1RS and 1BL.1RS wheat-rye translocations in wheat background // *Plant Breed.* – 2007. - Vol.126. – P. 482—486.

12 Baranova O. A., Lapochkina I. F., Anisimova A. V., Gajnullin N. R., Iordanskaya I. V. and I. Yu. Makarova Identification of Sr Genes in New Common Wheat Sources of Resistance to Stem Rust Race Ug99 Using Molecular Markers // *Russian Journal of Genetics: Applied Research.* - 2016. - Vol. 6, No. 3/ - P.344–350.

13 Mains E.B., Jackson H.C. Physiologic specialization in the leaf rust of wheat *Puccinia tritici* Erikss // *Phytopath.* - 1926. - Vol. 16. - № 1. - P. 89-120

14 Stakman E.C., Stewart D.M., Loegering W.Q. Identification of physiologic races of *Puccinia graminis* var. *tritici*. U.S. Dep. Agric. Agric. Res. Serv. E-617. U.S. Gov. Print. Office, Washington, DC, 1962

15 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. - T. 26, № 5.-P.496–500.

16 Койшибаев М., Муминджанов Х. Методические указания по мониторингу болезней, вредителей и сорных растений на посевах зерновых культур Продовольственная и сельскохозяйственная организация Объединенных Наций. - Анкара, 2016. – 28 с.

17 Cherukuri, D.P., Gupta, S.K., Charpe, A., et al., Molecular mapping of *Aegilops speltoides* derived leaf rust resistance gene Lr28 in wheat // *Euphytica.* – 2005. - Vol. 143. – P.19–26.

18 Helguera M., Khan I.A., and Dubcovsky, J., Development of PCR markers for wheat leaf rust resistance gene Lr47 // *Theor. Appl. Genet.* – 2000. - Vol. 101. – P. 625–631.

19 Mago R., Zhang P., Bariana H.S. et al. Development of wheat lines carrying stem rust resistance gene *Sr39* with reduced *Aegilops speltoides* chromatin and simple PCR markers for marker-assisted selection // *Theor. Appl. Genet.* - 2009. - Vol.124. - P.65-70.

20 Zilinsky F.J. The influence chromosome substitutions in some agronomic characteristics of hexaploid triticale // *Hodow. Rosl. Aklimat. Inasien.* 1980. - Vol.24, №4. - P.383-388.

21 Lukaszewsky A.J., Gustafson J.P. Translocations and modifications of chromosomes in Triticale x wheat hybrids // *Theor. Appl. Genet.* 1983. -Vol. 64.-P. 239-248.

References

1. Spravochnik, sel'skoe khozyaystvo, zernovye kul'tury. tritikale. [Elektronnyy resyrs]. URL [http:// www.ukragroconsult. com/ partnerstvo/ spravochnik/ selskoehozyaystvo/ zernovyekul'tury/tritikale](http://www.ukragroconsult.com/partnerstvo/spravochnik/selskoehozyaystvo/zernovyekul'tury/tritikale).
2. E.K.Hlestkina Molekulyarnyye markery v geneticheskikh issledovaniyakh i v selektsii //Vavilovskiy zhurnal genetiki i selektsii, 2013, tom 17, No 4/2, p.1044-1054
3. Koyshibayev M. Bolezni zernovykh kul'tur: siptomy, rasprostraneniye i vreditel'stvo, spetsializatsiya, biologicheskiye osobennosti, struktura populyatsii i vzbuditeley i integrirovannaya zashchita posevov.- Almaty: Bastau, 2002. – P.368
4. McIntosh R.A., Dubcovsky J., Rogers W.J., Morris C., Appels R., Xia X.C. 2009. Catalogue of gene symbols for wheat: 2009 supplement. In Komugi–Integrated Wheat Science Database. <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/macgene/supplement>
5. Schachermayr G.M., Siedler H., Gale M.D., Winzeler H., Winzeler M., Keller B. 1994. Identification and localization of molecular markers linked to the Lr9 leaf rust resistance gene of wheat. Theor. Appl. Genet. 88: 110-115
6. Singh R.P., Hodson D.P., Jin Y., Huerta-Espino J., Kinyua M.G., Wanyera R., Njau P., Ward R.W. Current status, likely migration and strategies to mitigate the threat to wheat production from race Ug99 (TTKS) of stem rust pathogen. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science // Nutrition and Natural Resources. – 2006. – Vol. 1(054). DOI: 10.1079/PAVSNNR20061054
7. De Laporta S.L., Wood J., Hicks J.B. A plant DNA miniprep protocol. Version II // Plant Mol. Biol. Rep. – 1983. – V.4.-P.19-21.
8. Hayden M.J., Kuchel H., Chalmers K.J. Sequence tagged microsatellites for the Xgwm533 locus provide new diagnostic markers to select for the presence of stem rust resistance gene Sr2 in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) // Theor. Appl. Genet. – 2004. – Vol. 109. – P.1641-1647. DOI: 10.1007/s00122-004-1787-5
9. Baranova O. A., Lapochkina I. F., Anisimova A. V., Gajnullin N. R., Iordanskaya I. V. and I. Yu. Makarova Identification of Sr Genes in New Common Wheat Sources of Resistance to Stem Rust Race Ug99 Using Molecular Markers // Russian Journal of Genetics: Applied Research. - 2016. - Vol. 6, No. 3/ - P.344–350.
10. Naik S., Gill K.S., Rao V.S. et.al. Identification of a STS marker linked to an Aegilops speltoides – derived leaf rust resistance gene Lr28 in wheat // Theor. Appl. Genet. - 1998. – Vol. 97. - P.535-540.
11. Schachermayer G., Siedler H., Gale M.D. Identification and localization of molecular markers linked to the Lr9 leaf rust resistance gene of wheat // Theor. Appl. Genet. 1994., Vol. 88. - P. 110–115.

12. Weng, Y., P. Azhaguvel, R. N. Devkota, and J. C. Rudd, 2007: PCR-based markers for detection of different sources of 1AL.1RS and 1BL.1RS wheat-rye translocations in wheat background // *Plant Breed.* – Vol.126. – P. 482—486.
13. Mains E.B., Jackson H.C. Physiologic specialization in the leaf rust of wheat *Puccinia tritici* Erikss // *Phytopath.* - 1926. - Vol. 16. - № 1. - P. 89-120
14. Stakman E.C., Stewart D.M., Loegering W.Q. Identification of physiologic races of *Puccinia graminis* var. *tritici*. U.S. Dep. Agric. Agric. Res. Serv. E-617. U.S. Gov. Print. Office, Washington, DC, 1962
15. 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. - T. 26, № 5. - P.496–500.
16. Koyshibayev M., Mumindzhanov KH. Metodicheskiye ukazaniya po monitoringu bolezney, vrediteley i sornykh rasteniy na posevakh zernovykh kul'tur ProdoVOL'stvennaya i sel'skokhozyaystvennaya organizatsiya Ob'yedinennykh Natsiy. - Ankara, 2016. – P.28
17. A. M. Kokhmetova, M. N. Atishova Identification of sources of resistance to wheat stem rust using molecular markers // *Russian Journal of Genetics: Applied Research* , 2012, Volume 2, Issue 6, P. 486–493
18. Cherukuri, D.P., Gupta, S.K., Charpe, A., et al., Molecular mapping of *Aegilops speltoides* derived leaf rust resistance gene Lr28 in wheat // *Euphytica.* – 2005. - Vol. 143. – P.19–26.
19. Helguera M., Khan I.A., and Dubcovsky, J., Development of PCR markers for wheat leaf rust resistance gene Lr47 // *Theor. Appl. Genet.* – 2000. - Vol. 101. – P. 625–631.
20. Mago R. and Dundas, I., Disease resistance. Sr39 <http://maswheat.ucdavis.edu/protocols/Sr39/index.htm>
21. Zilinsky F.J. The influence chromosome substitutions in some agronomic characteristics of hexaploid triticale // *Hodow. Rosl.Aklimat.Inasien.* 1980. - Vol.24, №4. - P.383-388.
22. Lukaszewsky A.J., Gustafson J.P. Translocations and modifications of chromosomes in Triticale x wheat hybrids // *Theor. Appl. Genet.* 1983. -Vol. 64.-P. 239-248.

САБАҚТЫ ЖӘНЕ ҚОҢЫР ТАТҚА ТӨЗІМДІЛІГІ БОЙЫНША ТРИТИКАЛЕ ГЕНОТИПТЕРІН МОЛЕКУЛАЛЫҚ МАРКЕРЛЕУ

*Базылова Т.А., Абекова А.М.,
Ержебаева Р.С.*

*ЖШС «Қазақ егіншілік және өсімдік шаруашылығы ғылыми-зерттеу
институты»,*

Түйін

Фитопатология және ДНҚ – маркерлеру әдісін қолдана отырып селекциялық үлгілердің қоңыр және сабақты татқа төзімділігі бағаланды. 64 селекциялық тритикале үлгілерінің сабақты және қоңыр татқа төзімділігі бойынша молекулалық генетикалық маркерлеу Sr2, Sr22, Lr28 және қара бидай транслокациясы 1BL.1RS/1AL1RS гендері бар тритикале линияларын анықтауға мүмкіндік берді. ДНҚ маркерлеу және иммунологиялық бағалау деректерін салыстыру барысында СП-2 асыл тұқымды питомнигінің 9 линиясы (243/2416, 2301, 2382, 2214, 2266, 2222, 2312, 2232 және 2190) инфекциялық фонда танаптық жағдайда жоғары төзімділікті көрсетті.

Кілттік сөздер: тритикале, сабақты тат, қоңыр тат, ПЦР, молекулярлы маркерлер, ген, ДНҚ

MOLECULAR MARKING OF TRITICALE GENOTYPES BY THEIR RESISTANCE TO STEM AND LEAF RUST

*Bazylova T.A., Abekova A.M.,
Yerzhebayeva R.S.*

Kazakh Research Institute of Agriculture and Plant Growing, Erlepesov street

Summary

Breeding lines of SP-2 were evaluated for resistance to leaf and stem rust using the phytopathology methods and DNA markers. Molecular-genetic identification of 64 triticale breeding lines on resistance to stem and leaf rusts allowed us to identify triticale lines with a complex of genes Sr2, Sr22, Lr28 and rye translocation 1BL.1RS / 1AL1RS. Comparison of results with DNA markers and immunological evaluation showed that 9 lines (243/2416, 2301, 2382, 2455, 2273, 2222, 2312, 2232, 2190) have confirmed their high resistance in the infected field conditions.

Keywords: triticale, stem rust, leaf rust, PCR, molecular markers, genes, DNA

Работа выполнена при финансовой поддержке Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан в рамках бюджетной программы 217 "Развитие науки", подпрограмме 102 "Грантовое финансирование научных исследований".

Выражаем свою благодарность ученым: Айнебековой Б.А.¹, кандидату сельскохозяйственных наук за предоставленный материал селекционного питомника (СП-2) тритикале. С 2005 года она являлась основным исполнителем и руководителем тематики по селекции тритикале и кормовой пшеницы, была основным исполнителем по двум грантам Всемирного банка развития (2009-2011 гг.)

Сарбаеву А. Т.¹, заведующему отделом Генофонда полевых культур и защиты растений ТОО «КазНИИЗиР», доктору сельскохозяйственных наук, академику АСХН РК, руководителю проекта «Оценка испытываемых сортообразцов пшеницы на искусственно-инфекционном фоне по их

резистентности к болезням и выделение устойчивых из них» за методическую помощь при работе с генотипами тритикале.

¹-ТОО «Казахский научно-исследовательский институт земледелия и растениеводства», ул.Ерлепесова 1, п. Алмалыбак, 040909, Республика Казахстан.