

С.Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университетінің Ғылым жаршысы (пәнаралық) = Вестник науки Казахского агротехнического университета им. С.Сейфуллина (междисциплинарный). - 2021. - №2 (109). - С.191-202

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОВ ПШЕНИЦЫ, ОБУСЛАВЛИВАЮЩИХ УСТОЙЧИВОСТЬ ПО ОТНОШЕНИЮ К ПАТОГЕННЫМ ГРИБАМ

Абдуллоев Ф.М., магистрант специальности «Биотехнология»

Швидченко В.К. канд. с.-х. наук, доцент

Киян В.С., PhD, ассоциированный профессор

*Научно-исследовательская платформа сельскохозяйственной биотехнологии
Казахский агротехнический университет им. С. Сейфуллина», пр. Жеңіс, 62
г. Нур-Султан, 010011, Казахстан, vskiy@gmail.com*

Аннотация

Автор статьи на основе собственно проведенных исследований доказывает, что наличие генов устойчивости пшеницы к патогенным грибам является ключевым фактором для использования в селекционной работе. В статье представлены результаты идентификации генов пшеницы *Sr32*, *Vt9* и *Vt10* отвечающих за устойчивость к патогенным грибам, вызывающим заболевания стеблевой ржавчины, а также твердой головки. По результатам исследования были выявлены сорта, несущие как положительный, так и отрицательный результат на наличие генов устойчивости, исходя из которых можно сделать вывод об эффективности дальнейшего применения данных сортов в селекции. Были обнаружены 8 сортов, а также гибридов пшеницы: Норман, Байтерек, Байтерек-Персикум, Лавина, Квадро-Пиротрикс, Пиротрикс, Амиго, Акмола, которые содержат все три гена устойчивости: *Sr32*, *Vt9* и *Vt10*, обеспечивающие проявление резистентности растения по отношению к таким заболеваниям, как стеблевая ржавчина и твердая головня. Данные сорта могут быть рекомендованы для дальнейшей селекции, а также высаживания сельскими хозяйствами Республики Казахстан. Идентификацию генов устойчивости проводили молекулярно-генетическим методом, ПЦР на основе генных участков и подбора к ним специфических праймеров.

Ключевые слова: гены устойчивости пшеницы, стеблевая ржавчина, твердая головня, патогенные микроскопические грибы, ПЦР, электрофорез.

Введение

В наше время пшеница – одна из самых важных пищевых культур большинства стран мира. Большой процент сельских хозяйств в мире, а также в Казахстане занимаются выращиванием пшеницы и дальнейшим производством из нее различной продукции. Большое внимание уделяется селекции пшеницы и созданию сортов, устойчивых к неблагоприятным условиям внешней среды, которые включают в себя агроэкологические, погодные и микробиологические условия [1].

Одной из самых больших проблем в сельском хозяйстве являются заболевания, которые вызываются различного рода патогенными грибами. Заболевания данного спектра встречаются практически во всех регионах их возделывания, в том числе и в Казахстане [2]. Заболеваемость данными болезнями зависит от множества различных факторов: от вида возбудителя, погодных условий, влажности, восприимчивости сортов пшеницы к заболеваниям и т.п. Вспышки заболевания могут колебаться как по сезонам, так и по зонам возделывания. Существуют виды ржавчины, которые по прогнозам могут уничтожить до 100 процентов всей пшеницы определенных видов, что приведет к катастрофе сельского хозяйства во всем мире. По оценке экспертов Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН (*Food and Agriculture Organization – FAO*), ежегодные мировые потери урожая пшеницы от заболеваний и вредителей

сельскохозяйственных культур выросли с 52,2 млн. условных зерновых единиц в 1986-1990 гг. до 70 млн. тонн в 1998-2005 гг [3].

Грибковые болезни пшеницы – это одна из главных причин снижения урожайности сельскохозяйственных культур. Заболевание посевных культур патогенными грибами выявлено практически во всех странах и районах мира. Наиболее распространенными видами ржавчины является стеблевая ржавчина, возбудителем которой является облигатный патоген (*Puccinia graminis f.sp. tritici*), который встречается во многих странах мира [4].

Стеблевая ржавчина встречается в любом районе мира, где произрастают ее хозяева: пшеница или другие злаки. В настоящее время по научной и экономической важности возбудитель стеблевой ржавчины входит в десятку самых опасных заболеваний культурных растений. В основном стеблевая ржавчина встречается в регионах с умеренным климатом, где температура летом выше 25°C [5]. Данное заболевание вызывало огромные потери урожая по всему миру в разные исторические периоды, в разных регионах и точках мира.

Возбудителем данного заболевания является паразитический гриб – *Puccinia graminis*, который имеет несколько специализированных форм, которые поражают различные сельскохозяйственные культуры [6]. При заражении культурных

сортов растений стеблевой ржавчины поражаются стебли и влагалища листьев, при сильном поражении – основание листовых пластинок, листья и колос. Условиями для быстрого распространения заболевания является высокая температура и роса [7]. Стеблевая ржавчина чаще возникает на стебле, но в некоторых случаях может локализоваться и на листовых пластинках, оболочках и при тяжелой форме на колосе. Пустулы уредии на стебле и листовых оболочках являются показателями заболевания. Красновато-коричневого цвета, овального или веретенообразного вида пустулы возникают на стебле, при этом пустулы могут менять цвет на черный в конце сезона, когда инфекция стареет и может вызвать серьезные потери урожая за короткий промежуток времени [8].

В особенности опасным представителем стеблевой ржавчины является раса *TTKS (Ug99)* впервые была обнаружена в Уганде в 1988 году, а затем появилась и распространилась уже на полях стран Ближнего Востока и Африки, и по прогнозам ученых быстро распространится по всем регионам, потенциально вызывая огромную катастрофу всему производству пшеницы, которая сильно повлияет на продовольственную безопасность [9]. Существует мнение, что данная линия бурой ржавчины может вызвать потерю урожая пшеницы до 100 процентов и приобретет вирулентность ко всем имеющимся генам устойчивости, которые ранее

защищали пшеницу от стеблевой ржавчины [10].

Заболевания пшеницы патогенными грибами встречаются и на территории Республики Казахстан, чаще всего на территориях степных зон, что характерно для регионов, засеваемых культурными растениями. В 1964 году массовая эпифитотия болезни пшеницы привела к потерям урожая от 20 до 50% [11]. В 1967 году в северных областях Республики болезнь охватила свыше 5 млн. га посевов пшеницы.

Интенсивность поражения на тот год достигла 70-90%, а потери урожая превысили 50%. Локальное распространение стеблевой ржавчины наблюдалось в 2006-2008 годах. В частности в Северо-Казахстанской и Костанайской областях, в 2007 году. Распространение болезни варьировало в пределах 20-40%, на некоторых полях 80-100%.

В последние годы заболевание стеблевой ржавчиной наблюдается на полях, с высадкой, преимущественно яровой пшеницы. В 2015-2016 годах наблюдалось ухудшение положения с заболеваемостью в Костанайской и Северо-Казахстанской областях, где эпидемия стеблевой ржавчины охватила более 1 млн га. Патоген в эти года был обнаружен на всех обследованных пашнях страны, особенно при позднем развитии растений, что привело к ощутимым снижениям урожайности и качества получаемого зерна [12].

Также к одной из самых вредоносных болезней пшеницы

относится твердая головня, возбудителем которой является вид патогенных грибов *Tilletia caries* [13].

Твердая головня пшеницы – один из самых главных ограничителей возделывания пшеницы и производства зерновой продукции по всему миру. В целях снижения распространения болезни, а также получения незараженного, чистого сельскохозяйственного продукта, повсеместно используется обработка фунгицидами. Использование современных методов защиты полностью устраняет прямые потери сельскохозяйственного продукта, фунгициды эффективно уничтожают споры гриба на семенах и в почве. Однако метод применения химических защитных средств наносит урон окружающей среде и здоровью человека [14].

Многие казахстанские сорта пшеницы, обладающие стабильной урожайностью, высоким качеством зерна и экологической пластичностью, очень сильно поражаются болезнями [15].

В целях получения хорошего качества зерна и поддержания высокой урожайности,

Материалы и методы

Работа проводилась на базе Научно-исследовательской платформы сельскохозяйственной биотехнологии» НАО «Казахский агротехнический университет им. С. Сейфуллина».

Объектом исследования послужили 20 образцов различных сортов пшеницы и их гибридов: Воля (1), Воля-Полба (2), Норман

производители сельскохозяйственных культур должны полагаться на устойчивые к болезням сорта пшеницы. Разработан ряд молекулярных маркеров, связанных с генами устойчивости к твердой головне пшеницы. Использование молекулярных методов создает условия для создания устойчивых к твердой головне сортов путем скрининга и интрогрессии *Bt*-генов устойчивости в сорта пшеницы с хорошими хозяйственно-ценными признаками [16].

К настоящему времени в базе данных зарегистрировано 69 *Sr* генов устойчивости по отношению к стеблевой ржавчине и 15 *Bt* генов, обуславливающих устойчивость к твердой головне. В производстве практически отсутствуют сорта устойчивые к твердой головне. Их создание обеспечит стабильность производства, высокую урожайность и повышение качества зерен пшеницы [17].

Целью исследовательской работы является идентификация генов устойчивости, обеспечивающих формирование резистентности растений пшеницы к грибковым заболеваниям.

(3), Дамсинская 90 (4), Норман-Дамсинская 90 (5), Байтерек (6), Персикум (7), Байтерек-Персикум (8), Камут (9), Лавина (10), Камут-Лавина (11), Квадро (12), Пиротрикс (13), Квадро-Пиротрикс (14), Норман (15), Астана (16), Норман-Астана (17), Амиго (18), Акмола (19), Амиго-Акмола (20).

Исследования проводили с использованием молекулярно-генетических методов выделения ДНК из листьев пшеницы, а также проведения ПЦР-анализа с отработкой параметров постановки реакции [18, 19].

Выделение геномной ДНК из растительного материала осуществлялось из 5-дневных проростков пшеницы с помощью СТАВ-метода.

СТАВ-буфер: 2% СТАВ, 1,4 М NaCl, 20 мМ ЭДТА, 100 мМ Tris-HCl pH 8, добавить дистиллированную воду до конечного объема 500 мл.

Измельчение листьев, добавление СТАВ буфера, затем

добавление РНКазы, инкубация, добавление хлороформ-изоамилового спирта, после испарения спирта добавить ТЕ буфер. Измерение концентрации выделенной ДНК.

Оценку эффективности выделения ДНК из растительного материала проводили с использованием спектрофотометра *NanoDrop 2000 (Thermo fisher scientific, USA)*.

Для идентификации гена *Sr32*, ответственного за устойчивость пшеницы к стеблевой ржавчине были синтезированы праймеры (таблица 1) [20].

Таблица 1 – Нуклеотидная последовательность праймеров

№	Наименование праймеров	Primer sequences (5' to 3')
1	<i>Sr32</i>	Forward: AAACGCCCAACCACCTCTCTC
		Reverse: ATGGTTTGTGTTGTGTTGTGGTAGG
2	<i>Bt9</i>	Forward: GTACATGGAAAGAGACCAACACCA
		Reverse: CGCTGAGCAAGGACGATAG
3	<i>Bt10</i>	Forward: CAACTCAGTGCTCACACAACG
		Reverse: CGATAACCACTCATCCACAAC

Аmplификацию маркерных генов проводили в конечном реакционном объеме 25 мкл, содержащем: 1.5 мМ Se-buf, 2 мМ dNTP, 25 пмоль прямого и обратного праймера, 1U Taq DNA полимеразы, DNA с концентрацией 100 ng/μl. ПЦР проводили в следующих условиях термоциклирования с отличиями в показателях температур отжига для каждого гена: *Sr32*-55°C, *Bt9*-60°C, *Bt10*-58°C в

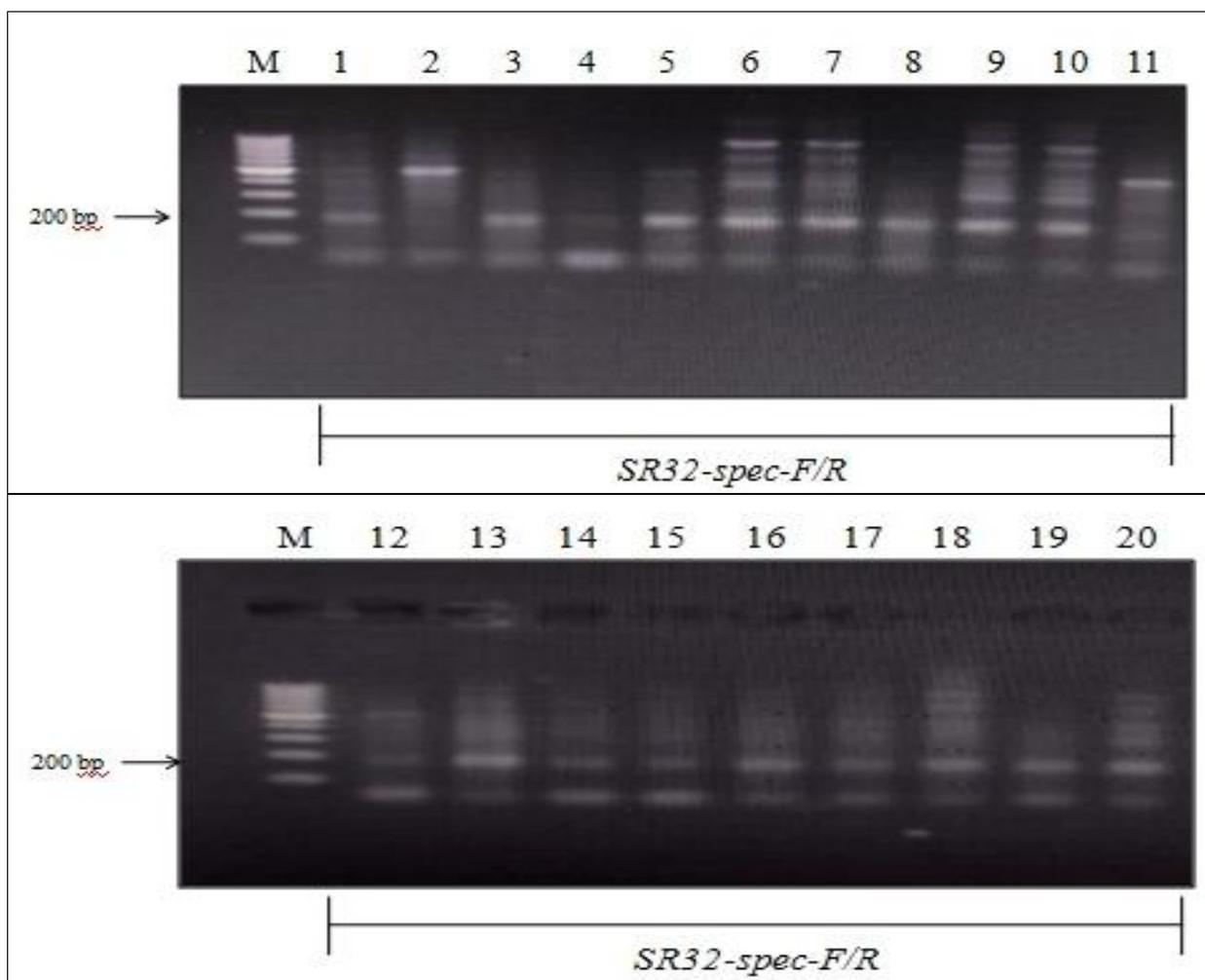
течение 40 с, 72°C в течение 40 сек, и окончательной элонгацией 5 мин при 72°C. Анализ амплифицированных целевых фрагментов ДНК, проводили в 1,5% агарозном геле, в присутствии бромистого этидия. В качестве электродного буфера использовали 1^x TAE-буфер.

Документирование полученных результатов проводили, используя систему документаций гелей *GelDoc (Bio-Rad, Germany)*. В качестве маркера

молекулярных масс использовали *USA*).
«*DNA Ladder 1kb*» (*Fermentas*,

Результаты исследования

После проведения амплификации на детекцию гена *Sr32*, и анализа амплифицированных фрагментов ДНК были получены следующие результаты (рисунок 1)



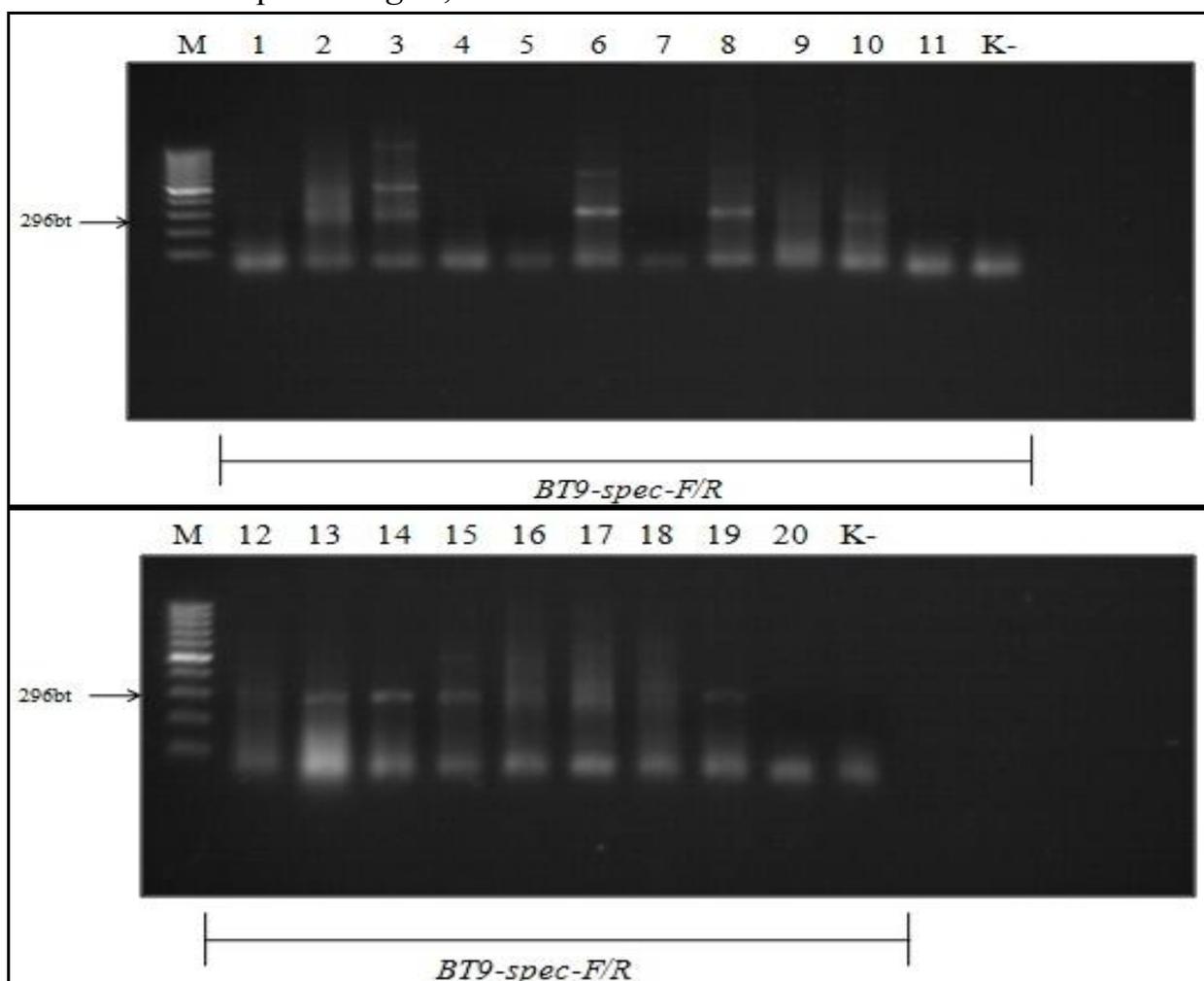
М – маркер *DNA Ladder 1kb*; 1 сорт – Воля, 2 гибрид – Воля-Полба, 3 сорт –
Норман, 4 сорт – Дамсинская 90, 5 гибрид- Норман-Дамсинская 90, 6 сорт –
Байтерек, 7 сорт – Персикум, 8 гибрид – Байтерек-Персикум, 9 сорт – Камут,
10 сорт – Лавина, 11 гибрид – Камут-Лавина, 12 сорт – Квадро, 13 сорт –
Пиротрикс, 14 гибрид – Квадро-Пиротрикс, 15 сорт – Норман, 16 сорт –
Астана, 17 гибрид – Норман-Астана, 18 сорт – Амиго, 19 сорт – Акмола, 20
гибрид – Амиго-Акмола

Рисунок 1 – Результат электрофореза после проведения ПЦР на
идентификацию гена *Sr32*

В результате проведенных исследований анализу были подвергнуты 20 сортов, а также гибридов пшеницы. При использовании праймеров, комплементарных амплифицируемому участку детектировались фрагменты ДНК размером 200 п.н. Фрагменты, указывающие на присутствие доминантного аллеля гена *Sr32*, обуславливающего устойчивость пшеницы по отношению к грибковым заболеваниям, в частности к расе *Ug99*, были

выявлены у 17 из 20 изученных образцов. В 3 изученных образцах, таких как: Воля-Полба (2), Дамсинкская 90 (4) и Камут-Лавина (11) наличие гена устойчивости *Sr32* выявлено не было.

После проведения полимеразной цепной реакции на детекцию генов *Bt9* и *Bt10* и анализа полученных данных путем проведения электрофореза были получены следующие результаты (рисунок 2, 3)



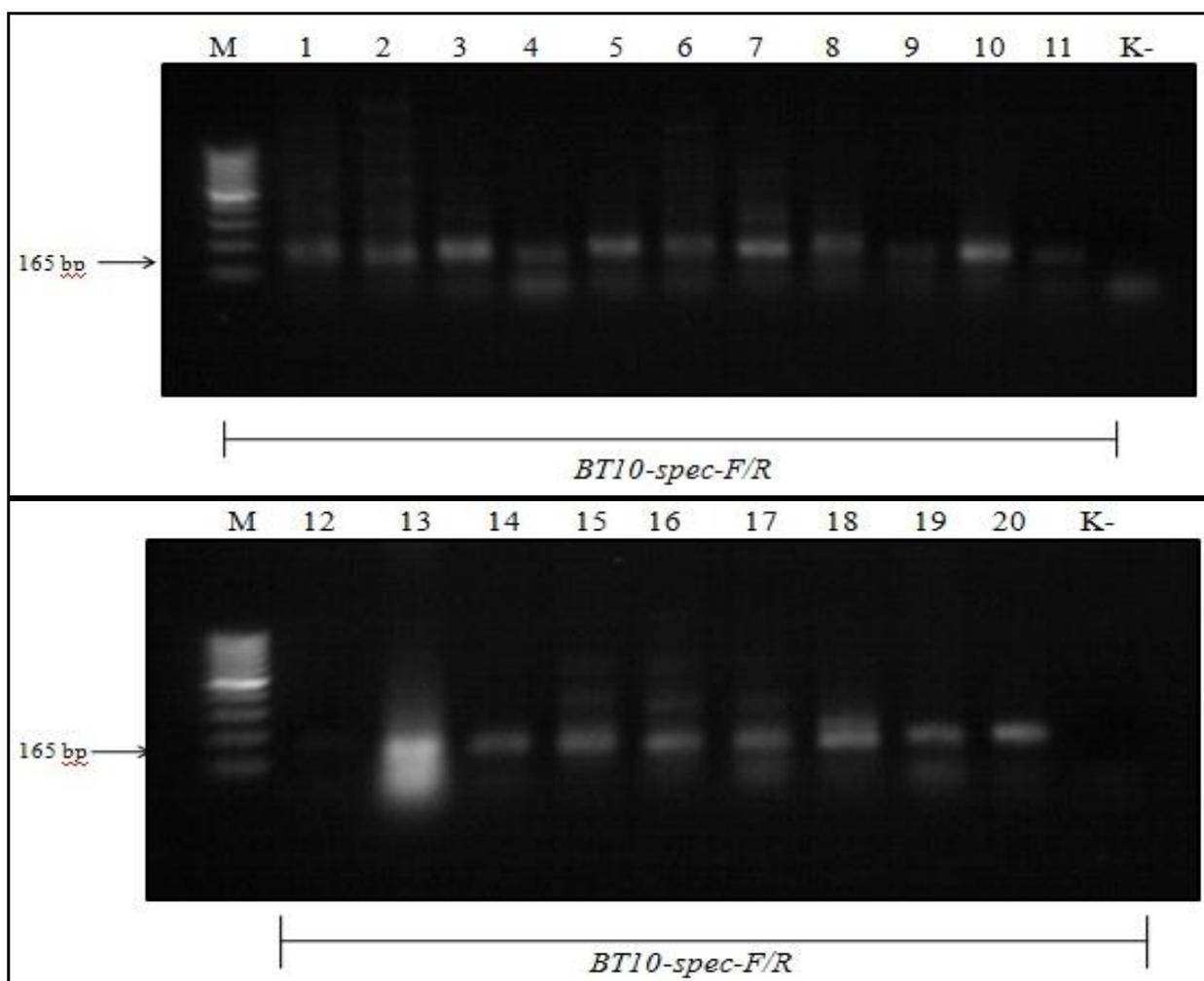
М – маркер *DNA Ladder 1kb*; 1 сорт – Воля, 2 гибрид – Воля-Полба, 3 сорт – Норман, 4 сорт – Дамсинкская 90, 5 гибрид- Норман-Дамсинкская 90, 6 сорт – Байтерек, 7 сорт – Персикум, 8 гибрид – Байтерек-Персикум, 9 сорт – Камут, 10 сорт – Лавина, 11 гибрид – Камут-Лавина, 12 сорт – Квадро, 13 сорт – Пиротрикс, 14 гибрид – Квадро-Пиротрикс, 15 сорт – Норман, 16 сорт – Астана, 17 гибрид – Норман-Астана, 18 сорт – Амиго, 19 сорт – Акмола, 20

гибрид – Амиго-Акмола

Рисунок 2 – Результат электрофореза после проведения ПЦР на идентификацию гена *Vt9*

При проведении ПЦР-анализа формируются фрагменты ДНК, размером 296 п.н., которые ассоциируются с наличием гена *Vt9* в образцах. Анализ показал, что ПЦР с использованием комплементарных праймеров подтвердил наличие гена *Vt9*, обуславливающего резистентность пшеницы к твердой головне в 10 образцах пшеницы, что составляет 50% от общего числа изучаемых образцов. Данный ген не был

идентифицирован в образцах: Воля (1), Дамсинская 90 (4), Норман-Дамсинская 90 (5), Персикум (7), Камут (9), Камут-Лавина (11), Квадро (12), Астана (16), Норман-Астана (17), Амиго-Акмола (20). Данные результаты позволяют сделать вывод о низком проценте наличия данного гена в отечественных сортах и гибридах, а также малоэффективности применения их для дальнейшей селекции



М – маркер *DNA Ladder 1kb*; 1 сорт – Воля, 2 гибрид – Воля-Полба, 3 сорт –

Норман, 4 сорт – Дамсинская 90, 5 гибрид- Норман-Дамсинская 90, 6 сорт – Байтерек, 7 сорт – Персикум, 8 гибрид – Байтерек-Персикум, 9 сорт – Камут, 10 сорт – Лавина, 11 гибрид – Камут-Лавина, 12 сорт – Квадро, 13 сорт – Пиротрикс, 14 гибрид – Квадро-Пиротрикс, 15 сорт – Норман, 16 сорт – Астана, 17 гибрид – Норман-Астана, 18 сорт – Амиго, 19 сорт – Акмола, 20 гибрид – Амиго-Акмола

Рисунок 3 – Результат электрофореза после проведения ПЦР на идентификацию гена *Vt10*

В результате проведения молекулярного скрининга 20 сортов и гибридов пшеницы на наличие гена *Vt10*, характерные ПЦР продукты размером 165 п.н. были идентифицированы в 19 образцах. Ген *Vt10* не был детектирован в образце Квадро (12). Данный ген был детектирован в 95% изученных сортах и гибридах пшеницы, которые могут быть использованы для

дальнейших селекционных работ, а также для высаживания сельскими хозяйствами.

В таблице 2 представлены результаты ПЦР-анализа пшеницы, отражающего наличие или отсутствие в исследуемых образцах генов устойчивости по отношению к возбудителям стеблевой ржавчины, а также твердой головки.

Таблица 2 – Наличие генов устойчивости *Sr32*, *Bt9*, *Bt10* в сортах и гибридах пшеницы

Сорт пшеницы	ген <i>Sr32</i>	ген <i>Bt9</i>	ген <i>Bt10</i>
Воля (1)	+	-	+
Воля-Полба (2)	-	+	+
Норман-Дамсинская 90 (5)	+	-	+
Норман (3)	+	+	+
Дамсинская 90 (4)	-	-	+
Байтерек-Персикум (8)	+	+	+
Байтерек (6)	+	+	+
Персикум (7)	+	-	+
Камут-Лавина (11)	-	-	+
Камут (9)	+	-	+
Лавина (10)	+	+	+
Квадро-Пиротрикс (14)	+	+	+
Квадро (12)	+	-	-
Пиротрикс (13)	+	+	+
Норман-Астана (17)	+	-	+
Норман (15)	+	+	+
Астана (16)	+	-	+
Амиго-Акмола (20)	+	-	+
Амиго (18)	+	+	+
Акмола (19)	+	+	+

Заключение

Таким образом, были подобраны специфические праймеры и отработан протокол постановки ПЦР-анализа для идентификации генов пшеницы, обуславливающих устойчивость к твердой головне и стеблевой ржавчине. Также были показаны сорта мягкой яровой пшеницы являющиеся носителями ценных генов, которые могут быть использованы в практической селекции и рекомендованы для выращивания в зерносеющих хозяйствах страны.

В результате проведенного молекулярного скрининга образцов на наличие генов устойчивости по отношению к *Puccinia graminis* и

Tilletia caries при использовании комплементарных праймеров было детектировано наличие всех трех генов *Sr32*, *Bt9* и *Bt10* в 8 сортах и гибридах пшеницы, таких как: Норман, Байтерек, Байтерек-Персикум, Лавина, Квадро-Пиротрикс, Пиротрикс, Амиго, Акмола. Данные сорта являются носителями генов устойчивости *Sr32*, *Bt9* и *Bt10*, обеспечивающих резистентность к таким заболеваниям, как стеблевая ржавчина и твердая головня, и могут быть использованы для высаживания в сельских хозяйствах Республики Казахстан, а также рекомендованы для применения в селекционных работах

Список литературы

1. Рсалиев Ш.С., Рсалиев А.С. Дифференциация патотипов стеблевой ржавчины в Казахстане. // Тезисы стендовых докладов «Вторая Центрально-Азиатская конференция по зерновым культурам». – Чолпон-Ата, 2006. – С.139-140.
2. Койшибаев М., Яхьяви А., Рсалиев Ш.С., Жанарбекова А.Б. Достижения и перспективы селекции озимой пшеницы на устойчивость к болезням в Центральной Азии // Биологические основы селекции и генофонда растений: Матер. междунар. научн. конф. – Алматы, 2005. – С. 117-121.
3. An Introduction to the Basic Concepts of Food Security. Food Security Information for Action. Practical Guides [Electronic resource] / Published by the EC FAO Food Security Programme. – FAO, 2008. 3 p.
4. 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

5. Анисимова А.В., Стеффенсон Б., Митрофанова О.П., Лапочкина И.Ф., Афанасенко О.С. Устойчивость сортифта пшеницы и образцов эгилопса из коллекции ВИР к расе стеблевой ржавчины Ug 99 (ТТКСК). Технологии создания и использования сортов и гибридов с групповой и комплексной устойчивостью к вредным организмам в защите растений. СПб., 2010.

6. Pretorius Z.A., Singh R.P., Wagoire W.W., Payne T.S. Detection of virulence to wheat stem rust resistance genes Sr31 in *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* in Uganda // *Plant Disease*. 2000. V. 84. P. 203.

7. Койшыбаев М. Болезни зерновых культур. – Алматы, 2002. – С. 367.

8. Чекмарев В.В., Зеленева Ю.В., Фирсов В.Ф., Левин В.А. Методические рекомендации по испытанию химических препаратов и других средств против твердой головки пшеницы на искусственном инфекционном фоне. – Тамбов: Издательский дом ТГУ имени Г.Р. Державина, – 2011. – С. 46.

9. Jin Y., Szabo Z.A., Pretorius Z.A. *et al.* Detection of virulence to Sr24 within race ТТКС of *Puccinia graminis* f. sp. *Tritici* // *Plant Disease*. 2008. V. 92. P. 923–926.

10. Singh R.P., Hodson D.P., Jin Y. *et al.* Current status, likely migration and strategies to mitigate the threat to wheat production from race Ug99 (ТТКС) of stem rust pathogen // *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*. 2006. 1. N 054 DOI: 10.1079/PAVSNNR20061054

11. Рсалиев Ш.С. Вирулентность новых патотипов стеблевой ржавчины в Казахстане // Вторая Всерос. конф. «Современные проблемы иммунитета растений к вредным организмам», Санкт-Петербург, 29 сентября–2 октября 2008. СПб: Инновационный центр защиты растений, 2008. С. 87-90.

12. Зеленский Ю.И., Койшибаев М.К., Моргунов А.И. Повышение устойчивости яровой мягкой пшеницы к видам ржавчины и септориозу в Северном Казахстане 140

13. Shiferaw B., Smale M., Braun H-J., *et al* Crops that feed the world 10. Past successes and future challenges to the role played by wheat in global food security // *Food Security*. – 2013. – Vol. 5. – P. 291–317. Doi: 10.1007/s12571-013-0263-y.

14. Yorgancilar A. Screening Turkish and IWWIP germplasm (International winter wheat improvement program) for common bunt (*Tilletia foetida* (wallr.) Liro, *Tilletia caries* (D.C.) tul.) resistance under eskisehir field conditions / A. Yorgancilar [et al.] // XIX Intern. Workshop on smuts and bunts (May 3-6 2016). – Izmir, – 2016. – P.54-55.

15. Рсалиев Ш.С., Тилеубаева Ж.С., Рсалиев А.С., Агабаева А.Ч. Отбор ценных сортов зерновых культур среди зарубежного селекционного материала (методические подходы). // Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию со дня рождения Ж.Т.Джиембаева «Современные проблемы защиты и карантина растений». – Алматы: Алейрон, 2005. – С.255-261.

16. Madenova A.K., Kokhmetova A.M., Atishova M.N., Galymbek K., Keishilov Z.S. Molecular screening for resistance to common bunt (*Tilletia caries*) of wheat // Journal of Biotechnology. Proc. of 'European Biotechnology Congress 2019, Valencia, Spain, April 11-13, 305S. 2019. S33-S88.
17. Laroche A., Demeke T., Gaudet D., Puchalski B., Frick M., and McKenzie R. Development of a PCR marker for rapid identification of the Bt10 gene for common bunt resistance in wheat. Genome. – 2000. – Vol. 43. – P. 217-223.
18. Doyle, J. J. and J. L. Doyle. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochemical Bulletin 19, 1987. P. 11-15.
19. Kleppe, K. et al. (1971): Studies on polynucleotides. XCVI. Repair replications of short synthetic DNA's as catalyzed by DNA polymerases. In: J. Mol. Biol. Bd. 56, S. 341-361.
20. Маденова А.К., Атишева М.Н., Кохметова А.М., Амангельдинова М.Е. Идентификация носителей генов устойчивости к твердой головне *tilletia caries* (DC.) пшеницы., Алматы; 2019.

REFERENCES

1. Rsaliyev SH.S., Rsaliyev A.S. Differentsiatsiya patotipov steblevoy rzhavchiny v Kazakhstane. // Tezisy stendovoykh dokladov «Vtoraya Tsentral'no-Aziatskaya konferentsiya po zernovym kul'turam». – Cholpon-Ata, 2006. – S.139-140.
2. Koyshibayev M., Yakh'yavi A., Rsaliyev SH.S., Zhanarbekova A.B. Dostizheniya i perspektivy selektsii ozimoy pshenitsy na ustoychivost' k bolezniam v Tsentral'noy Azii // Biologicheskkiye osnovy selektsii i genofonda rasteniy: Mater. mezhdunar. nauchn. konf. – Almaty, 2005. – S. 117-121.
3. An Introduction to the Basic Concepts of Food Security. Food Security Information for Action. Practical Guides [Electronic resource] / Published by the EC FAO Food Security Programme. – FAO, 2008. 3 p.
4. Baranova O.A., Lapochkina I.F., Anisimova A.V., Gaynullin N.R., Iordanskaya I.V., Makarova I.YU. Identifikatsiya genov Sr u novykh istochnikov ustoychivosti myagkoy pshenitsy k rase steblevoy rzhavchiny Ug99 s ispol'zovaniyem molekulyarnykh markerov. Vavilovskiy zhurnal genetiki i selektsii. 2015; 19(3):316-322. DOI 10.18699/VJ15.041.
5. Anisimova A.V., Steffenson B., Mitrofanova O.P., Lapochkina I.F., Afanasenko O.S. Ustoychivost' sortimenta pshenitsy i obraztsov egilopsa iz kolleksii VIR k rase steblevoy rzhavchiny Ug 99 (TTKSK). Tekhnologii sozdaniya i ispol'zovaniya sortov i gibridov s gruppovoy i kompleksnoy ustoychivost'yu k vrednym organizmam v zashchite rasteniy. SPb., 2010.
6. Pretorius Z.A., Singh R.P., Wagoire W.W., Payne T.S. Detection of virulence to wheat stem rust resistance genes Sr31 in *Puccinia graminis* f. sp. tritici in Uganda // Plant Disease. 2000. V. 84. P. 203.
7. Koyshybayev M. Bolezni zernovykh kul'tur. – Almaty, 2002. – S. 367.

8. Chekmarev V.V., Zeleneva YU.V., Firsov V.F., Levin V.A. Metodicheskiye rekomendatsii po ispytaniyu khimicheskikh preparatov i drugikh sredstv protiv tverdoy golovni pshenitsy na iskusstvennom infektsionnom fone. – Tambov: Izdatel'skiy dom TGU imeni G.R. Derzhavina, – 2011. – С. 46.

9. Jin Y., Szabo Z.A., Pretorius Z.A. *et al.* Detection of virulence to *Sr24* within race TTKS of *Puccinia graminis* f. sp. *Tritici* // Plant Disease. 2008. V. 92. P. 923–926.

10. Singh R.P., Hodson D.P., Jin Y. *et al.* 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. 1. N 054 DOI: 10.1079/PAVSNNR20061054.

11. Rsaliyev SH.S. Virulentnost' novykh patotipov steblevoy rzhavchiny v Kazakhstane // Vtoraya Vseros. konf. «Sovremennyye problemy immuniteta rasteniy k vrednym organizmam», Sankt-Peterburg, 29 sentyabrya–2 oktyabrya 2008. SPb: Innovatsionnyy tsentr zashchity rasteniy, 2008. S. 87-90.

12. Zelenskiy YU.I., Koyshibayev M.K., Morgunov A.I. Povysheniye ustoychivosti yarovoy myagkoy pshenitsy k vidam rzhavchiny i septoriozu v Severnom Kazakhstane 140.

13. Shiferaw B., Smale M., Braun H-J., et al Crops that feed the world 10. Past successes and future challenges to the role played by wheat in global food security // Food Security. – 2013. – Vol. 5. – P. 291–317. Doi: 10.1007/s12571-013-0263-y.

14. Yorgancılar A. Screening Turkish and IWWIP germplasm (International winter wheat improvement program) for common bunt (*Tilletia foetida* (Wallr.) Liro, *Tilletia caries* (D.C.) Tul.) resistance under Eskisehir field conditions / A. Yorgancılar [et al.] // XIX Intern. Workshop on smuts and bunts (May 3-6 2016). – Izmir, – 2016. – P.54-55.

15. Rsaliyev SH.S., Tileubayeva ZH.S., Rsaliyev A.S., Agabayeva A.CH. Otkor tsennykh sortov zernovykh kul'tur sredi zarubezhnogo selektsionnogo materiala (metodicheskiye podkhody). // Materialy mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii, posvyashchennoy 90-letiyu so dnya rozhdeniya ZH.T.Dzhiyembayeva «Sovremennyye problemy zashchity i karantina rasteniy». – Almaty: Aleyron, 2005. – S.255-261.

16. Madenova A.K., Kokhmetova A.M., Atishova M.N., Galymbek K., Keishilov Z.S. Molecular screening for resistance to common bunt (*Tilletia caries*) of wheat // Journal of Biotechnology. Proc. of 'European Biotechnology Congress 2019, Valencia, Spain, April 11-13, 305S. 2019. S33-S88.

17. Laroche A., Demeke T., Gaudet D., Puchalski B., Frick M., and McKenzie R. Development of a PCR marker for rapid identification of the Bt10 gene for common bunt resistance in wheat. Genome. – 2000. – Vol. 43. – P. 217-223.

18. Doyle, J. J. and J. L. Doyle. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochemical Bulletin 19, 1987. P. 11-15.

19. Kleppe, K. et al. (1971): Studies on polynucleotides. XCVI. Repair replications of short synthetic DNA's as catalyzed by DNA polymerases. In: J. Mol. Biol. Bd. 56, S. 341-361.

20. Madenova A.K., Atisheva M.N., Kokhmetova A.M., Amangel'dinova M.Ye. Identifikatsiya nositeley genov ustoychivosti k tverdoy golovne tilletia caries (DC.) pshenitsy., Almaty; 2019.

Бидайдың патогендік саңырауқұлақтарға төзімділігін анықтайтын гендерді идентификациялау

*Абдуллоев Ф. М., «Биотехнология» мамандығының магистранты
Швидченко В. К., канд. а. ш. ғ., доцент*

Киян В. С., PhD, қауымдастырылған профессор

*Ауыл шаруашылығы биотехнологиясының ғылыми-зерттеу платформасы
Қазақ агротехникалық университеті. С. Сейфуллин", Жеңіс даңғылы, 62
Нұр-Сұлтан қ., 010011, Қазақстан, vskiyana@gmail.com*

Түйін

Мақала авторы өзінің зерттеуі негізінде бидайдың патогенді саңырауқұлақтарға төзімді гендерінің болуы тұқымдық жұмыстарды пайдаланудың шешуші факторы екендігін дәлелдейді. Мақалада бидай гендерін сәйкестендірудің нәтижелері келтірілген Sr32, Vt9 және Vt10 патогенді саңырауқұлақтарға тұрақтылықты тудырады, олар тат, сондай-ақ шірік ауруларын тудырады. Зерттеу нәтижелері бойынша төзімділік гендерінің болуы үшін оң және теріс нәтижелер беретін сорттар анықталды, олардың негізінде асыл тұқымды өсіруде осы сорттарды одан әрі пайдалану тиімді деген қорытынды жасауға болады. 8 түр, сонымен қатар бидай будандары табылды: Норман, Бәйтерек, Байтерек-Персикум, Лавина, Квадро-Пиротрикс, Пиротрикс, Амиго, Ақмола, олар барлық үш қарсыласу генін қамтиды: Sr32, Vt9 және Vt10, олардың көрінуін қамтамасыз етеді. Аталған сорттарды келешекте ауруларға төзімділік деңгейіне қарай одан әрі өсіруге, және селекцияда пайдаланып, сондай-ақ Қазақстан Республикасының ауылшаруашылығында егуге ұсынуға болады. Резистенттік гендерді идентификациялау гендік аймақтарға негізделген ПТР және олар үшін арнайы праймерлерді таңдау арқылы молекулалық-генетикалық әдіспен жүзеге асырылды.

Кілттік сөздер: бидайға төзімді гендер, сабақ таты, тозаңды қаракүйе, патогендік микроскопиялық саңырауқұлақтар, ПТР, электрофорез.

Identification of genes that determine the resistance of wheat to pathogenic fungi

Abdulloyev F. M., Master's student of the specialty "Biotechnology»

Shvidchenko V. K., Candidate of Agricultural Sciences, docent

Kiyan V. S., PhD, Associate Professor

Agricultural Biotechnology Research Platform

S. Seifullin Kazakh Agrotechnical University", 62 Zhenis

Ave., Nur-Sultan, 010011, Kazakhstan, vskiyangmail.com

The author of the article proves on the basis of the actual research that the presence of wheat resistance genes to pathogenic fungi is a key factor for use in breeding work. The article presents the results of identification of wheat genes Sr32, Bt9 and Bt10 responsible for resistance to pathogenic fungi that cause diseases of stem rust, as well as hard smut. According to the results of the study, varieties were identified that carry both positive and negative results for the presence of resistance genes, based on which it can be concluded about the effectiveness of further use of these varieties in breeding. 8 varieties and hybrids of wheat were found: Norman, Baiterek, Baiterek-Peachum, Lavina, Quadro-Pirotrix, Pirotrix, Amigo, Akmola, which contain all three resistance genes: Sr32, Bt9 and Bt10, which provide the manifestation of the plant's resistance to diseases such as stem rust and hard smut. These varieties can be recommended for further breeding, as well as planting by agricultural enterprises of the Republic of Kazakhstan. The identification of resistance genes was carried out by the molecular genetic method, PCR on the basis of gene sites and the selection of specific primers for them.

Key words: wheat resistance genes, stem rust, hard smut, pathogenic microscopic fungi, PCR, electrophoresis.