










Ж.К. Жунусбаева<sup>1</sup> , Н.Ж. Омирбекова<sup>1</sup> , Б.О. Бекманов<sup>2</sup> ,  
Д.О. Мынбаева<sup>1\*</sup> , М.Е. Естаева<sup>1</sup> , А.Е. Ержан<sup>1</sup> ,  
А.Б. Рысбекова<sup>3</sup> , А.И. Жусупова<sup>1</sup> , Ш.М. Ыргынбаева 

<sup>1</sup> НАО Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

<sup>2</sup> РГП «Институт генетики и физиологии» КН МОН РК, Казахстан, г. Алматы

<sup>3</sup> НАО Казахский агротехнический университет им. С. Сейфуллина, Казахстан, г. Нур-Султан

\*e-mail: [dana\\_1206@mail.ru](mailto:dana_1206@mail.ru)

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ НОСИТЕЛЕЙ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ К ЛИСТОВОЙ РЖАВЧИНЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА В СОРТАХ МЯГКОЙ И ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЫ

Буряя или листовая ржавчина является одной из наиболее вредоносных болезней пшеницы, возбудителем которой является гриб *Puccinia triticina*, относящийся к семейству Pucciniaceae. Она может привести к потерям урожая, а также к снижению качества зерна. Устойчивость к бурой ржавчине мягкой и твердой пшеницы является предпосылкой для получения стабильно высоких урожаев. Материалом исследований служили 11 образцов (отечественные и российские). С целью изучения устойчивости пшеницы к бурой ржавчине были выбраны 7 генов – Lr9, Lr10, Lr14, Lr22a, Lr28, Lr34 и Lr67. На основе результатов молекулярного скрининга было установлено, что сорта мягкой пшеницы несут в своих геномах гены Lr10, Lr22a, Lr34 а также Lr67 и являются носителями как эффективных, так и неэффективных генов устойчивости. Маркер, сцепленный с геном Lr9, был идентифицирован лишь у контрольного образца Новосибирская 29, что указывает на отсутствие данного гена у материалов твердой пшеницы. Но образцы *T. durum* защищены генами Lr10, Lr14 и высокоэффективным геном Lr28. Сорта пшениц, у которых были амплифицированы гены устойчивости к бурой ржавчине, могут быть пирамидированы с другими генами устойчивости к листовостебельным болезням и успешно применяться в соответствующих селекционных программах.

**Ключевые слова:** мягкая и твердая пшеница, устойчивость, Lr-гены, STS, SSR, буряя ржавчина.

Zh.K. Zhunusbayeva<sup>1</sup>, N.Zh. Omirbekova<sup>1</sup>,  
B.O. Bekmanov<sup>2</sup>, D.O. Mynbayeva<sup>1\*</sup>, M.Y. Yestayeva<sup>1</sup>,  
A.Y. Yerzhan<sup>1</sup>, A.B. Rysbekova<sup>3</sup>, A.I. Zhussupova<sup>1</sup>, Sh.M. Yrgynbayeva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>NJSC Kazakh National University named after Al-Farabi, Kazakhstan, Almaty

<sup>2</sup>RSE «Institute of Genetics and Physiology» CS MES RK, Kazakhstan, Almaty

<sup>3</sup>NAO Kazakh Agrotechnical University named after S. Seifullin, Kazakhstan, Nur-Sultan

\*e-mail: [dana\\_1206@mail.ru](mailto:dana_1206@mail.ru)

### Detection of carriers of resistance genes to leaf rust using molecular genetic analysis in varieties of soft and durum wheat

Brown or leaf rust is one of the devastating wheat diseases, caused by the fungus *Puccinia triticina* Pucciniaceae family, which can lead to crop losses and also to deterioration of grain quality. The brown rust resistance of soft and durum wheat is a prerequisite for consistently high yields. Eleven samples (of local and Russian selection) were used as a research material. In order to study wheat resistance to leaf rust, seven genes were selected – Lr9, Lr10, Lr14, Lr22a, Lr28, Lr34, and Lr67. Based on the results of the molecular screening, it was found that both soft and durum wheat varieties have Lr10, Lr22a, Lr34 and Lr67 genes in their genomes and are carriers of both effective and ineffective resistance genes. The marker linked to the Lr9 gene was identified only in the control sample Novosibirskaya 29, which indicates the absence of this gene in durum wheat materials. Even so durum wheat samples are protected by genes Lr10, Lr14 and highly efficient gene Lr28. Wheat varieties in which resistance genes have been amplified can be pyramided with other resistance genes and successfully used in appropriate breeding programs.

**Key words:** soft and durum wheat, resistance, Lr-genes, STS, SSR, brown rust.

Ж.К. Жунусбаева<sup>1</sup>, Н.Ж. Омирбекова<sup>1</sup>,  
Б.О. Бекманов<sup>2</sup>, Д.О. Мынбаева<sup>1\*</sup>, М.Е. Естаева<sup>1</sup>,  
А.Е. Ержан<sup>1</sup>, А.Б. Рысбекова<sup>3</sup>, А.И. Жусупова<sup>1</sup>, Ш.М. Ыргынбаева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>«Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті» КеАҚ, Қазақстан, Алматы қ.

<sup>2</sup>«Генетика және физиология институты» РМК ҚР ҒБМ ҒК, Қазақстан, Алматы қ.

<sup>3</sup>«С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университеті» КеАҚ, Қазақстан, Нұр-Сұлтан қ.

\*e-mail: dana\_1206@mail.ru

### Жұмсақ және қатты бидай сорттарында молекулалық-генетикалық талдау көмегімен қоңыр татқа төзімді ген тасымалдаушыларды анықтау

Қоңыр немесе жапырақ таты бидай дақылының зиянды ауруларының бірі болып табылады. Ауру қоздырушысы *Puccinia striiformis* туысына жататын саңырауқұлақ *Puccinia triticina*, өнімділіктің және дән сапасының төмендеуіне алып келеді. Жұмсақ және қатты бидайдың қоңыр татқа төзімділігі үнемі жоғары өнімділіктің алғышарты болып табылады. Зерттеу материалы ретінде жұмсақ және қатты бидайдың 11 үлгісі (отандық және шетелдік) пайдаланылды. Бидайдың жапырақ татына төзімділігін зерттеу үшін 7 ген – Lr9, Lr10, Lr14, Lr22a, Lr28, Lr34 және Lr67 таңдалды. Молекулалық скринингтің нәтижелері бойынша жұмсақ және қатты бидай сорттары геномында Lr10, Lr22a, Lr34 және Lr67 гендерін алып жүретіндігі және тиімді де, тиімсіз де тұрақтылық гендерінің тасымалдаушысы екендігі анықталды. Lr9 генімен тіркескен маркер Новосибирская 29 бақылау үлгісінде ғана анықталды, бұл қатты бидай материалдарында бұл геннің жоқтығын көрсетеді. Алайда *T. durum* үлгілері Lr10, Lr14 гендерімен және жоғары тиімді Lr28 генімен қорғалған. Жапырақ татына қарсы төзімділік гендері анықталған бидай сорттары жапырақ татына төзімділік танытатын басқа ген тасымалдаушы үлгілермен будандастыруға (пирамидирование) болады және тиісті селекциялық жобаларда қолданыла алады.

**Түйін сөздер:** жұмсақ және қатты бидай, төзімділік, Lr-гендер, STS, SSR, қоңыр тат.

## Введение

В современном мире продовольственная безопасность является одной из значимых проблем многих государств. По оценке экспертов Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН (FAO), общим показателем национальной безопасности любой страны служит производство зерна, в развитых странах этот показатель составляет 900-1000 кг на 1 человека. Согласно данным FAO, в 2014 году мировое производство пшеницы составляло 729 млн. тонн, к 2024 году будет увеличено до 788 млн. тонн [1].

Пшеница – это национальный бренд Казахстана, который обеспечивает продовольственную безопасность нашей страны, как основное злаковое зерно и экспортно-ориентировочный продукт. Более одной трети урожая ежегодно направляется в зарубежные страны. Наибольший процент зерна отправляется в ближние с Казахстаном, страны СНГ. Также в список основных государств импортирующих наше зерно и муку входят США, Австралия, Канада страны Европейского Союза, Ближнего Востока и Северной Африки [2-3].

Основным биологическим фактором, сдерживающим производство пшеницы и лимити-

рующим получение высоких урожаев является недостаточная устойчивость сортов пшеницы к различным заболеваниям. Именно поэтому защита посевов от различных патогенов и усиление работы в этом направлении одна из основных задач, стоящих перед селекционерами и генетиками страны.

Ржавчинные грибы являются одними из наиболее распространенных патогенов растений и вызывают серьезные заболевания зерновых культур. Они могут быть широко распространены на обширных географических территориях с помощью переносимых ветром базидиоспор, эциоспор и урединиоспор и часто сильно генетически разнообразны по расам или патотипам, различающимся вирулентностью / авирулентностью по отношению к разным генотипам хозяев. Поэтому устойчивость к ржавчине – совокупность сложных признаков, основанных на многих независимых или взаимосвязанных генетических факторах.

Одним из вредоносных грибов, порождающих ржавчинную болезнь является *Puccinia triticina Eriks. (Pt)*. Патоген вызывает бурую или листовую ржавчину пшеницы, тем самым повлекая серьезные потери во всех регионах мира, где выращивают пшеницу, в том числе и в Казахстане.

Ежегодные потери урожая пшеницы из-за бурой ржавчины достигают 3,5% и 4,5%, если эпидемия развивается рано и инфекция сохраняется до полного созревания зерна, потери увеличиваются до 40-60%. Согласно статистике FAO, потери урожая из-за болезни во всем мире составляют около 10% от основных продовольственных культур [4-5].

Как было выше сказано в природе индивидуальная популяция *Puccinia triticina* состоит из многих физиологических рас с разным уровнем вирулентности. Отчасти это связано с переносимостью грибка по воздуху, а отчасти с мутацией или отбором. Это позволяет грибку развить вирулентность по отношению к сортам, которые, по-видимому, несут одну или больше генов устойчивости (R) к наиболее распространенным расам грибов в различных регионах [11].

Наиболее эффективным, экономичным и экологически безопасным методом борьбы с болезнью считается использование генетически устойчивых сортов. Описано более 80 генов устойчивости к бурой ржавчине, не только из пшеницы, но и из родственных видов, которые были введены в геном пшеницы с помощью различных методологий [6]. Введение в сорта пшеницы генов устойчивости к листовой ржавчине (генов *Lr*) – лучший способ их защиты с точки зрения экологической безопасности [7]. Но многие из них потеряли свою эффективность в борьбе против возбудителя листовой ржавчины.

Широкое использование сортов пшеницы с разными генами устойчивости к листовой ржавчине привело к тому, что в основных регионах выращивания пшеницы обнаруживаются все более разные и намного устойчивые расы листовой ржавчины. При этом потребность в зерне, как к одному из главных злаковых и источнику сырья для биотоплива только увеличивается. Поэтому внедрение и использование различных биотехнологических подходов с применением молекулярных методов наряду с традиционным гибридологическим анализом и фитопатологическим тестированием может помочь ускорить и облегчить процесс селекционных программ по устойчивости к бурой ржавчине [8].

В связи с постоянной генетической изменчивостью патогена эффективность генов недолговечна, следовательно, необходимо постоянное

изучение состава популяции патогенов в районе возделывания культуры, а также необходим постоянный поиск новых генов устойчивости, пригодных для селекции пшеницы.

Цель исследования – провести идентификацию генов *Lr* к листовой ржавчине сортов мягкой и твердой пшеницы с применением молекулярно-генетического метода.

## Методы и материалы

Для выявления генов *Lr* были использованы 11 сортов мягкой озимой и твердой яровой пшеницы и выбраны 7 специфических маркеров. Исследования проводились в лаборатории молекулярной генетики Научно-исследовательского Института Генетики и Физиологии. Образцы были предоставлены лабораторией «Генетики и селекции растений», факультета биологии и биотехнологии КазНУ им. аль-Фараби, а также Казахским агротехническим университетом им. С.Сейфуллина.

Экстракцию геномного ДНК из 7-дневных проростков проводили с помощью модифицированного СТАВ-метода (Riede & Anderson). При выборе *Lr* генов для исследования учитывался уровень устойчивости к *Puccinia triticina* Eriks. (*Pt*), а также их локализация в геномах мягкой и твердой пшениц. Идентификацию генов осуществляли с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР) с праймерами, маркирующими отдельные гены *Lr*. Праймеры были отобраны на основании данных литературных источников. Нуклеотидные последовательности данных праймеров представлены в таблице 1.

Аmplификация проводилась в амплификаторе Master cycler nexus gradient Eppendorf (Германия). Программы амплификации были выбраны в соответствии с каждым исследуемым геном устойчивости. Используемые ПЦР-программы представлены в таблице 2.

Продукты амплификации разделяли с использованием электрофореза в 1,4% агарозном геле в 1xTBE. Гели окрашивали и документировали в ультрафиолетовом свете с помощью системы гель-документации Vilber Lourmat (Франция). В качестве маркера для оценки молекулярной массы амплифицированных фрагментов ючл применен ДНК-маркер GeneRuler 100bp DNA Ladder (ThermoFisherScientific, США).

**Таблица 1** – Характеристика праймеров, использованных для идентификации Lr генов

Lr-гены	Название маркера	Тип маркера	Локализация	Последовательность, 5'→3'
Для мягкой озимой пшеницы				
<i>Lr10</i>	FL2245lr10-6/r2	STS	1AS	GTG TAA TGC ATG CAG GTT CC AGG TGT GAG TGA GTT ATG TT
<i>Lr22a</i>	WMS296	SSR	2DS	AAT TCA ACC TAC CAA TCT CTG GCC TAA TAA ACT GAA AAC GAG
<i>Lr34</i>	csLV34	STS	7DS	GTT GGT TAA GAC TGG TGA TGG TGC TTG CTA TTG CTG AAT AGT
<i>Lr67</i>	Xcfd23-4D	CFD	4D	CAA TAA GTA GGC CGG GAC AA TGT GCC AGT TGA GTT TGC TC
Для твердой яровой пшеницы				
<i>Lr9</i>	J13/1	SCAR	6BL	TCC TTT TAT TCC GCA CGC CGG CCA CAC TAC CCC AAA GAG ACG
<i>Lr10</i>	FL2245lr10-6/r2	STS	1AS	GTG TAA TGC ATG CAG GTT CC AGG TGT GAG TGA GTT ATG TT
<i>Lr14</i>	Xqwm344	SSR	7BL	CAA GGA AAT AGG CGG TAA CT ATT TGA GTC TGA AGT TTG CA
<i>Lr28</i>	Lr28	STS	4AL	CCC GGC ATA AGT CTA TGG TT CAA TGA ATG AGA TAC GTG AA

**Таблица 2** – Условия проведения реакции амплификации

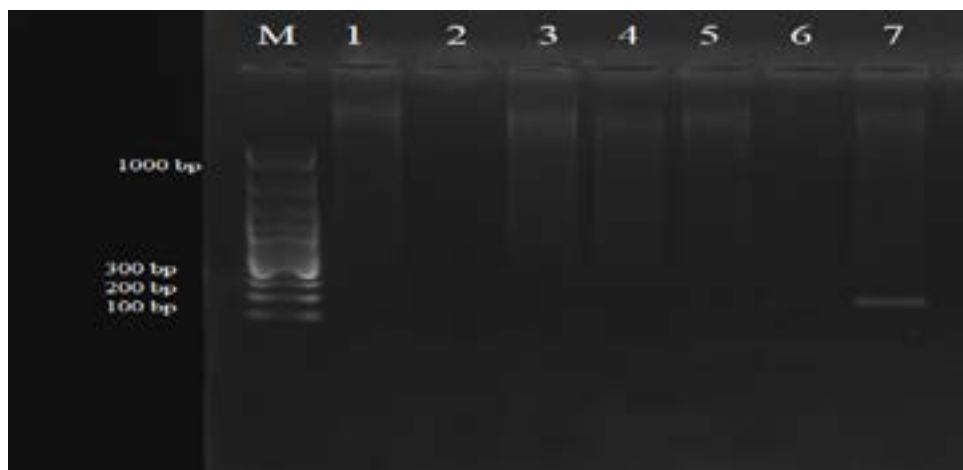
Lr Гены	Начальная денатурация, °C (мин)	Количество циклов	Денатурация °C (сек)	Отжиг, °C (сек)	Экстенция, °C (сек)	Последняя экстенция °C (мин)
<i>Lr10</i>	94 (3)	35	94 (60)	58 (60)	72 (120)	72 (5)
<i>Lr22a</i>	94 (2)	30	94 (60)	55 (60)	73 (50)	73 (5)
<i>Lr34</i>	94 (10)	30	94 (30)	60 (30)	72 (30)	72 (7)
<i>Lr67</i>	94 (2)	30	95 (60)	60 (60)	72 (60)	73 (5)
<i>Lr9</i>	94 (5)	35	92 (60)	58 (60)	72 (120)	72 (5)
<i>Lr14</i>	94 (3)	45	94 (60)	55 (60)	72 (120)	72 (10)
<i>Lr28</i>	94(6)	35	94 (60)	55 (60)	72 (60)	72 (5)

### Результаты исследования и их обсуждение

Континентальный и влажный климат юго-восточных и северных регионов Казахстана создает идеальные условия для развития бурой ржавчины, именно по этой причине выявление генов устойчивости *Lr* у исследуемых сортов пшеницы является важным для будущих селекционных программ. С каждым годом появляются новые расы возбудителей бурой ржавчины. В результате, многие гены устойчивости теряют свою эффективность.

Ниже описаны результаты идентификации *Lr* генов для сортов твердой яровой пшеницы. В качестве контрольного образца был взят сорт мягкой пшеницы Новосибирская 29, который указан на снимках под №7.

При использовании SCAR маркера гена *Lr9* продукт амплификации с молекулярным весом 200 пар нуклеотидов выявлен только у контрольного образца. У остальных сортов пшеницы не идентифицировано характерных фрагментов, что позволяет заключить об отсутствии этого гена у изучаемых образцов (рисунок 1).



М – молекулярный маркер (GeneRuler 100 bp DNALadder, ThermoFisherScientific, США).  
 1 – Корона; 2 – Лавина; 3 – Дамсинская 90; 4 – Дамсинская 2017;  
 5 – Дамсинская юбилейная; 6 – Дамсинская янтарь; 7 – Новосибирская 29 (контроль).

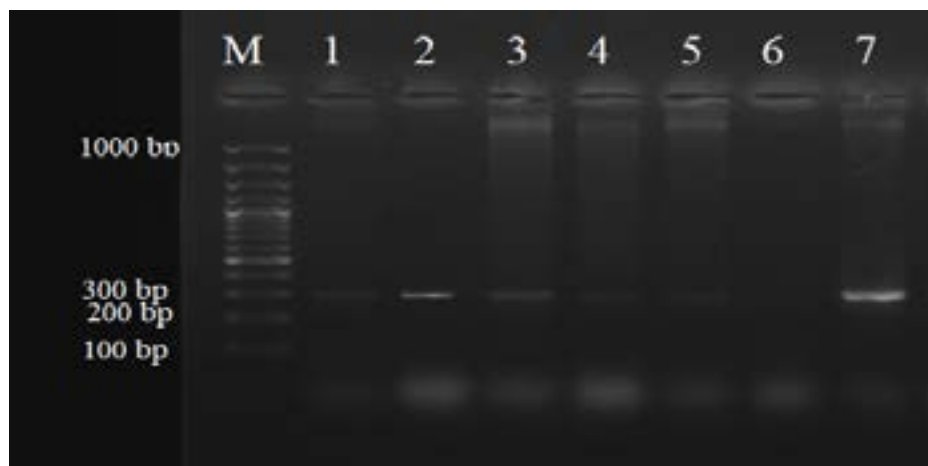
**Рисунок 1** – Продукты амплификации ДНК гена *Lr9*

Ген *Lr9*, локализованный на длинном плече хромосомы 6В, это один из наиболее эффективных генов устойчивости пшеницы к бурой ржавчине. Он перенесен в геном пшеницы от *Aegilops umbellulata*. В 2004-2005 г.г. было установлено, что *Lr9* имеет высокую эффективность к природной популяции *Puccinia recondita* [14]

Первые сорта с *Lr9* созданы в 60–70-х гг. прошлого столетия в США. Ген *Lr9* массово включали в селекционные программы во многих странах. 2014 г. Гульятеева Е.И. и др. исследовали коллекцию изолятов возбудителя бурой ржавчины сортов пшеницы в Северном Казахстане. Инфекционный материал собирали с сортов твердой пшеницы Дамсинская 90 и Харьковская 9 в Шортандинской области. Все изученные изоляты были авирулентными по отношению к генам *Lr9*, *Lr19*, *Lr24* [12, 13]. Тем не менее полученные результаты показали отсутствие этого гена у исследуемых твердых сортов пшеницы. До недавнего времени ген *Lr9* относился к группе высокоэффективных во всем мире. Выращивание сортов с ним предопределило появление вирулентных изолятов гриба, которые впервые были отмечены в США в 1971 г., спустя четыре года с начала массового возделывания. В настоящее время вирулентность к гену *Lr9* отмечается как в регионах выращивания сортов с этим геном, так и за их пределами. По данным Гульятеевой и др. соавторов большинство российских и ка-

захстанских изолятов *P. tritricina*, вирулентны к линиям с генами *Lr9* или *Lr19*, также к *Lr1*, *Lr3* и *Lr10*. Поэтому чтобы сохранить эффективность в сельском хозяйстве, ген *Lr9* необходимо комбинировать и пирамидировать с другими эффективными и частично эффективными генами устойчивости. Таким примером является сочетание генов *Lr9* с геном *Lr26* или геном устойчивости взрослых растений *Lr37* [15]. Также сообщалось, что комбинация *Lr9* с геном *Lr24* приводит к высоким уровням устойчивости к листовой ржавчине.

*Lr10* является одним из первых клонированных генов устойчивости, кодируемых белком типа CC-NBS-LRR. В большинстве случаев для идентификации этого гена использует молекулярный маркер, созданный Schachermayer et al. (1997) [21]. В настоящее время из-за появления вирулентных изолятов гриба и потери эффективности гена, *Lr10* обнаружен во многих сортах пшеницы. Следовательно, источники гена *Lr10*, идентифицированные в этом исследовании, можно рассматривать для использования в качестве родительской линии при селекции на слияние с другими эффективными генами *Lr* в Казахстане. Для детекции гена в исследовании применялся маркер специфический праймер *Lr10* FI.22451r10-6/r2. В результате амплификации у всех образцов кроме сорта Дамсинская янтарная был выявлен фрагмент с длиной 300 п.н. (Рисунок 2)



М – молекулярный маркер (GeneRuler 100 bp DNALadder, ThermoFisherScientific, США).  
 1 – Корона; 2 – Лавина; 3 – Дамсинская 90; 4 – Дамсинская 2017;  
 5 – Дамсинская юбилейная; 6 – Дамсинская янтарная; 7 – Новосибирская 29 (контроль)

**Рисунок 2** – Продукты амплификации ДНК гена *Lr10*

Отечественные исследователи Кохметова А., Маденова А., Уразалиев Р. и т.д. в 2012–2014 годах в совместном исследовании с Венгерской некоммерческой организацией по исследованию зерна и Международным центром по улучшению качества кукурузы и пшеницы в Турции (CIMMYT) также использовали праймеры F1.2245 и Lr10-6 / r2 для идентификации гена *Lr10* у широко используемых сортов и в ведущих линиях пшеницы в Казахстане [16].

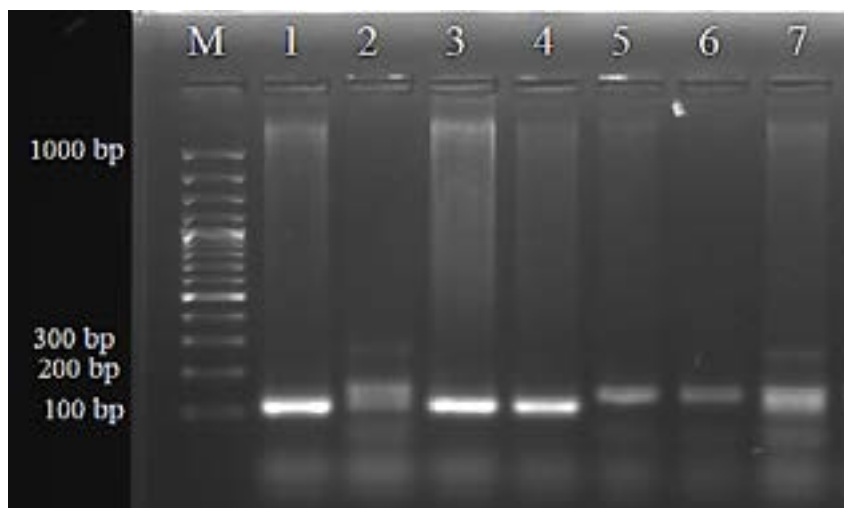
*Lr14* один из наиболее эффективных генов устойчивости твердой и мягкой пшеницы. Согласно цитогенетическому анализу, гены устойчивости к бурой ржавчине пшеницы *Lr14* расположены на длинном плече хромосомы 7В. Считается, что *Lr14* был перенесен в геном пшеницы из *Triticum dicoccum*. Данный ген имеет аллели *Lr14a* и *Lr14b*. Ген *Lr14a* связан с генами устойчивости к стеблевой ржавчине и мучнистой росе *Sr17* и *Pm5* соответственно. По литературным данным, *Lr14* можно рассматривать как один из ценных ген устойчивости к бурой ржавчине в странах, выращивающих твердую пшеницу [17]. В результате исследования длина амплифицированного фрагмента гена *Lr14*, как показано на снимке, составила около 100 и 150 п.н (Рисунок 3). Выбранный маркер позволил выявить характерный фрагмент амплификации у всех сортов пшениц. В научной литера-

туре предполагается, что диапазон этого гена составляет от 100 до 200 п.н.

Ген устойчивости *Lr28* расположен на длинном плече хромосомы 4А. Он транспортирован в геном пшеницы от *Aegilops speltoides* и относится к группе эффективных, защищающих растения пшеницы от поражения бурой ржавчиной в различных регионах мира. Кумар А.А., Рагхавая П. [18] отметили высокую продуктивность сортов и линий, несущих этот ген. *Lr28* описывается как эффективный в Западной Европе, Индии, Пакистане, Китае, России и как неэффективный – в США и Канаде [19].

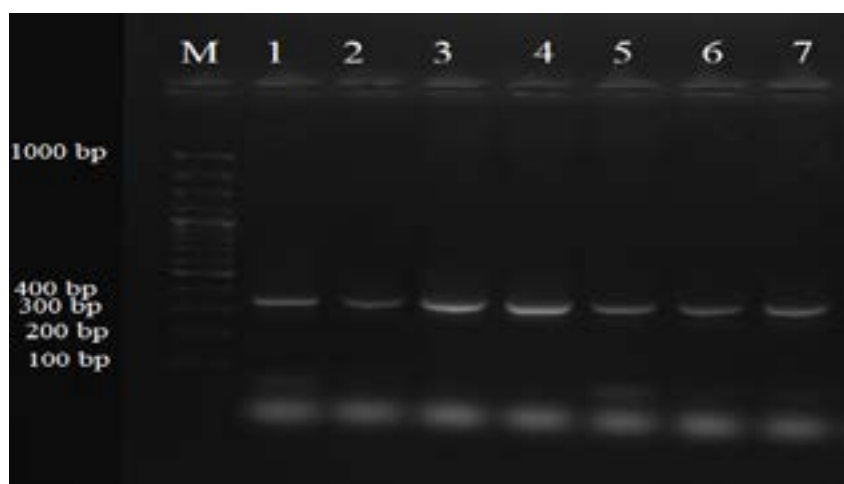
В результате идентификации был выявлен фрагмент имеющий молекулярную массу между 300 и 400 п.н., который показывает что маркерсцепленный с геном *Lr28* амплифицировался у всех семи сортах (Рисунок 4).

Иранские ученые М. Kadkhodaei, А. Dadkhodaie и др. [20] в своих исследованиях идентифицировали ген устойчивости *Lr28* на длине 378 п.н. Ген может быть рекомендован для селекционных программ, направленных на выведение сортов пшеницы, устойчивых к бурой ржавчине. В настоящее время в селекционных программах *Lr28* используют в сочетании с другими генами устойчивости, поскольку в отличие от большинства чужеродных генов, он определяет повышение урожайности и показывает хорошую ржавчиноустойчивость.



М – молекулярный маркер (GeneRuler 100 bp DNALadder, Thermo Fisher Scientific, США).  
1 – Корона; 2 – Лавина; 3 – Дамсинская 90; 4 – Дамсинская 2017; 5 – Дамсинская юбилейная;  
6 – Дамсинская янтарная; 7 – Новосибирская 29 (контроль)

**Рисунок 3** – Продукты амплификации ДНК гена *Lr14*



М – молекулярный маркер (GeneRuler 100 bp DNALadder, Thermo Fisher Scientific, США).  
1 – Корона; 2 – Лавина; 3 – Дамсинская 90; 4 – Дамсинская 2017; 5 – Дамсинская юбилейная;  
6 – Дамсинская янтарная; 7 – Новосибирская 29 (контроль)

**Рисунок 4** – Продукты амплификации ДНК гена *Lr28*

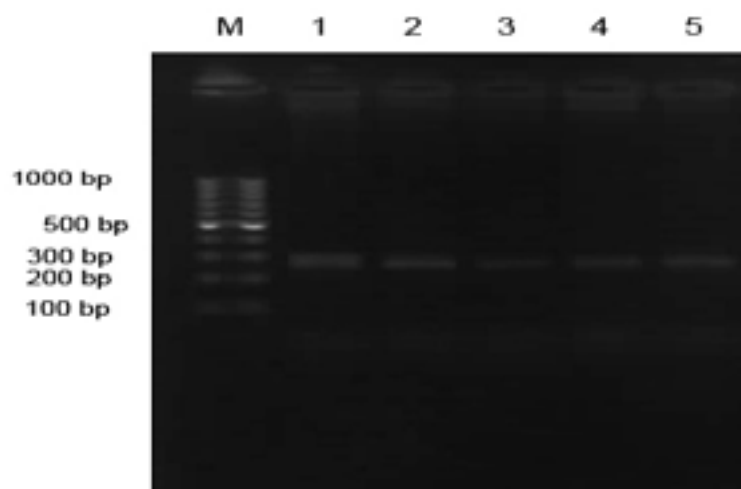
Ген *Lr10* идентифицирован в геноме пшеницы и картирован на коротком плече хромосомы 1A. *Schachermayr* с соавторами впервые выделили этот ген и описали его структуру [21]. Ген *Lr10* получил широкое распространение в сортах пшеницы по всему миру. Он обнаружен во многих австралийских сортах, сортах Северной Америки и линиях, ведущих свое происхождение из селекционных программ Международ-

ного центра улучшения кукурузы и пшеницы (СУММИТ). В связи с быстрым адаптационным процессом вирулентных рас патогена направленный на преодоление эффекта генов устойчивости *Lr10* не является высокоэффективным. По данным исследования СИММУТ показано, что сочетание 4-5 генов устойчивости играет важную роль в комбинации с другими генами устойчивости к бурой ржавчине [22]. В результате

ПЦР-анализа с использованием специфичного для данного гена FI.2245lr10-6/r2 STS-маркера, был установлен фрагмент длиной около 290 п.н. Данный фрагмент наблюдался во всех исследованных образцах (Рисунок 5).

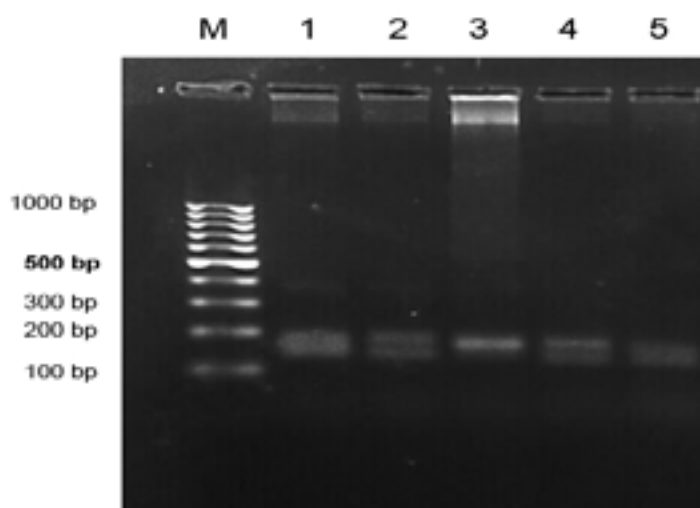
Наличие двух аллелей (а и b) гена возрастной устойчивости к бурой ржавчине *Lr22*, локализованных в хромосоме 2DS, было впервые показано G.G. Rowland и E.R. Kerber [23]. Источником данного гена является *Aegilops tauschii*. Иден-

тификация гена *Lr22a* проводится путем ПЦР с применением SSR маркера WMS296 [10]. Размер фрагмента ДНК *Lr22a* гена колеблется от 120 до 185 п.н. По идентификации данного гена в Казахстане проводилось ограниченное число исследований. Кохметова А.М. с коллегами выявила два фрагмента этого гена с различной длиной. Представленное различие между размерами ДНК фрагмента объясняется тем, что локус *Lr22a* является специфичным у разных сортов (Рисунок 6).



М – молекулярный маркер (GeneRuler 100 bp DNALadder, Thermo Fisher Scientific, США).  
1 – Новосибирская 29; 2 – Казахстанская 19; 3 – Ирень; 4 – Самгау; 5 – Женис

**Рисунок 5** – Продукты амплификации ДНК гена *Lr10*



М – молекулярный маркер (GeneRuler 100 bp DNALadder, Thermo Fisher Scientific, США).  
1 – Новосибирская 29; 2 – Казахстанская 19; 3 – Ирень; 4 – Самгау; 5 – Женис

**Рисунок 6** – Продукты амплификации ДНК гена *Lr22a*



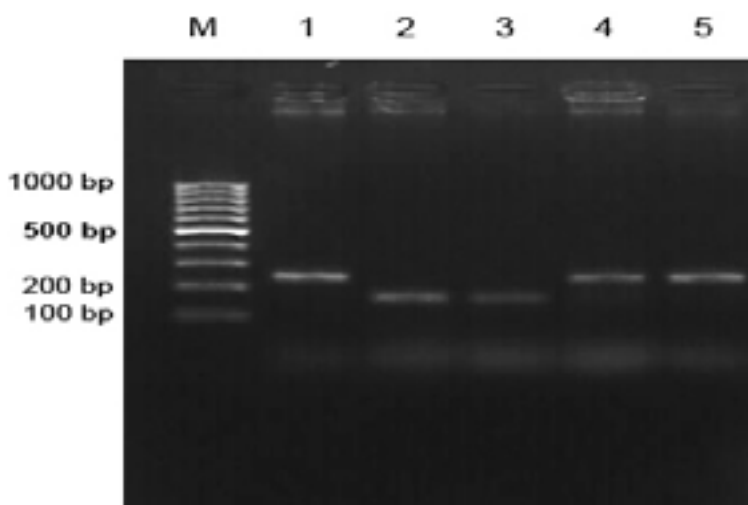
Один из наиболее эффективных генов устойчивости к бурой ржавчине *Lr34* широко распространен у коммерческих сортов пшеницы. Экспрессируется он преимущественно в листьях, однако может функционировать и в зародышах [9]. *Lr34* ген относится к группе генов, обеспечивающих устойчивость как качественного, так и количественного проявления. К этой немногочисленной группе генов также относятся *Lr46* и *Lr67*. Комплекс генов *Lr34* и *Lr68* обеспечивает длительную и неспецифическую устойчивость взрослого растения. Важно, что на сегменте хромосомы, содержащем ген *Lr34*, расположены также другие гены устойчивости, в частности, к стеблевой ржавчине (*Yr18*) [25]. Этот локус на хромосоме 7D представляет практический интерес для решения обсуждаемой проблемы у мягкой пшеницы.

В данном исследовании для выявления гена *Lr34* был использован csLV34STS-маркер. Ген локализован в 7DS хромосоме. В результате

ПЦР у сортов выявляются фрагменты разной длины, от 185 до 258 п.н. Сегмент хромосомы, в состав которого входит ген *Lr34*, содержит также ген устойчивости к желтой ржавчине *Yr18*, стеблевой ржавчине, желтой карликовости ячменя *Bdv1* [24]. Этот факт является усилителем ценности данного локуса.

Маркер csLV34 гена *Lr34*, позволяет оценить аллельное состояние в образцах озимой мягкой пшеницы. Наличие доминантного аллеля подтверждается присутствием фрагмента с молекулярным весом 150 п.н., тогда как рецессивного аллеля фрагментом с молекулярным весом 229 п.н. В случае гетерогенности исходного материала на электрофореграмме присутствует оба фрагмента.

Полученные нами результаты (Рисунок 7) свидетельствуют о наличии в исследуемых образцах гена *Lr34* в различных аллельных состояниях: рецессивного у сортов Новосибирская 29, Самгау и Женис, доминантного у сортов Казахстанская 19 и Ирень.

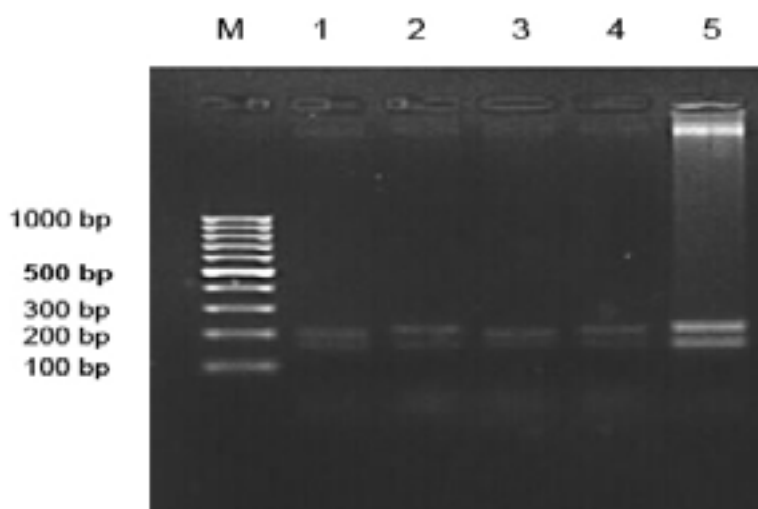


М – молекулярный маркер (GeneRuler 100 bp DNALadder, Thermo Fisher Scientific, США).  
1 – Новосибирская 29; 2 – Казахстанская 19; 3 – Ирень; 4 – Самгау; 5 – Женис

Рисунок 7 – Продукты амплификации ДНК гена *Lr34*

Ген *Lr67* в комплементарном взаимодействии с другими генами устойчивости обеспечивает полевую устойчивость к *Puccinia recondita* в виде APR гена. Для поиска гена был использован генетический маркер

Xcfd23-4D. Ген *Lr67* локализован в хромосоме 4D. На рисунке 5 представлена электрофореграмма ампликонов, демонстрирующая наличие во всех исследуемых образцах гена *Lr67* (Рисунок 8).



М – молекулярный маркер (GeneRuler 100 bp DNALadder, Thermo Fisher Scientific, США).  
1 – Новосибирская 29; 2 – Казахстанская 19; 3 – Ирень; 4 – Самгау; 5 – Женис

Рисунок 8 – Продукты амплификации ДНК гена *Lr67*

Таблица 4 – Наличие или отсутствие семи генов устойчивости к бурой ржавчине в 11 генотипах мягкой и твердой пшеницы

№	Сорта твердой пшеницы	<i>Lr9</i>	<i>Lr10</i>	<i>Lr14</i>	<i>Lr28</i>	№	Сорта мягкой пшеницы	<i>Lr10</i>	<i>Lr22a</i>	<i>Lr34</i>	<i>Lr67</i>
1	Дамсинская 90	-	+	+	+	7	Новосибирская 29	+	+	+	+
2	Дамсинская янтарная	-	+	+	+	8	Казахстанская 19	+	+	+	+
3	Дамсинская юбилейная	-	+	+	+	9	Ирень	+	+	+	+
4	Дамсинская 20-17	-	+	+	+	10	Самгау	+	+	+	+
5	Корона	-	+	+	+	11	Женис	+	+	+	+
6	Лавина	-	+	+	+						

В результате исследования у сортов мягкой пшеницы идентифицированы гены *Lr10*, *Lr22a*, *Lr34*, *Lr67*, в сортах твердой пшеницы дополнительно выявлены гены *Lr10*, *Lr14* и *Lr28*. В свою очередь, маркер, сцепленный с геном *Lr9*, был амплифицирован лишь у сорта Новосибирская 29, взятого в качестве контрольного образца.

### Заключение

В результате исследования сортов мягкой и твердой пшениц с применением молекулярного метода были идентифицированы некоторые *Lr* гены. Таким образом сорта мягкой пшеницы Казахстанская 19, Новосибирская 29, Ирень, Самгау, Женис, а также сорта твердой пшеницы Дамсинская 90, Дамсинская янтарная, Дамсинская юбилейная, Дамсинская 20-17, Корона и

Лавина могут быть предложены в качестве доноров генов устойчивости к бурой ржавчине в различных селекционных программах. На основе полученных результатов было установлено, что сорта мягкой пшеницы несут в своих геномах все выбранные для них *Lr* гены и являются носителями как эффективных, так и неэффективных генов устойчивости. В целом идентифицированные гены показывают значительную устойчивость к патогенам бурой ржавчины в условиях южного Казахстана и могут быть пирамидированы с другими генами устойчивости, что позволит долгое время сохранять их значимость для селекционных работ. Результаты молекулярного скрининга в данной работе указывают на отсутствие у материалов твердой пшеницы гена *Lr9*, однако образцы твердой пшеницы защищены генами *Lr10*, *Lr14* и высокоэффективным геном

*Lr28*. Генетика устойчивости твердой пшеницы к болезням изучена не на таком уровне, как *T. aestivum*, поэтому можно предположить, что геномы твердых сортов могут нести новые либо другие известные гены устойчивости, для которых не были подобраны молекулярные маркеры. Сорта пшеницы, являющиеся устойчивыми на протяжении пяти и более лет, теряют эту способность. Такое явление напрямую связано со способностью патогенных вредителей эволюционировать с высокой скоростью (новые расы, патотипы). В связи с этим появляется необхо-

димость увеличения числа ржавчиноустойчивых сортов. Проведенный анализ демонстрирует значимость проведения генетических скринингов *Lr* генов у используемых доноров и новых сортов пшеницы, а также необходимость использования этой информации при их районировании в регионах с плохим патогенным фоном.

*Работа выполнена в РГП «Институт генетики и физиологии» КН МОН РК, лаборатория «Молекулярной генетики». Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

### Литература

- 1 Койшыбаев М. Болезни пшеницы / М. Койшыбаев. – Анкара: ФАО, 2018. – 394 с.
- 2 Гриднева Е.Е. Современные тенденции развития рынка пшеницы в Республике Казахстан / Гриднева Е.Е., Калиакпарова Г.Ш., Гусева О.С. // Проблемы агрорынка. – 2018. – 2. – С. 148-154.
- 3 Агапова В.Д. Эффективность ювенильных генов устойчивости к возбудителю бурой ржавчины озимой пшеницы в фазу проростков в условиях юга России / Агапова В.Д., Ваганова О.Ф., Волкова Г.В. // Международный научно-исследовательский журнал. – 2020. – № 8 (98) Часть 1. – С. 163-167.
- 4 Koishybayev M.K. Genetic study of wheat resistance to leaf rust / Koishybayev M.K., Zhanarbekova A.B., Kokhmetova A.V., Rsaliev Sh.S. // Bulletin of NAS RK. – 2010. – 6. – С. 10-15.
- 5 Койшыбаев М. Особенности распространения особо опасных болезней пшеницы в Казахстане, устойчивость сортов и внутривидовое разнообразие патогенов / Койшыбаев М. // Иммуногенетическая защита сельскохозяйственных культур от болезней. Теория и практика. – М., Большие Вяземы, 2012. – С.118-126.
- 6 McIntosh, R.A.; Dubcovsky, J.; Rogers, J.M.; Xia, X.; Raupp, W.J. Catalogue of gene symbols for wheat: 2020 supplement. Annu. Wheat Newsl. 2020, 66, 109–128
- 7 Dinh H.X. Molecular genetics of leaf rust resistance in wheat and barley / Dinh H.X., Singh D., Periyannan S., Park R.F., Pourkheirandish M. // Theor. Appl. Genet. – 2020. – 133(7). – P. 2035-2050. <https://doi.org/10.1007/s00122-020-03570-8>.
- 8 Odintsova I.G. Grain Cultivars with Known Disease Resistance Genes in VIR Catalogue of the World Collection / Odintsova I.G., Makarova N.A., Krupnov V.A. – Leningrad, 1988. – P. 12–21.
- 9 Manninger K. Effective Resistance Genes as Sources of Resistance Against Hungarian Wheat Rust / Manninger K. // Czech J. Genet. Plant Breed. – 2002. – vol. 38, no. 3-4. – P. 153-154.
- 10 Kthiri D. Mapping of Genetic Loci Conferring Resistance to Leaf Rust From Three Globally Resistant Durum Wheat Sources / Kthiri D., Loladze A., N'Diaye A., Nilsen K.T., Walkowiak S., Dreisigacker S., Ammar K., Pozniak C.J. // Front. Plant Sci. – 2019. – 10:1247. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01247>.
- 11 Тырышкин Л.Г. Индукция экспрессии генов устойчивости взрослых растений к листовой ржавчине у проростков пшеницы / Тырышкин Л.Г., Курбанова П.М. // Микология и фитопатология. – 2009. – 43(1). – С. 75-80.
- 12 Бабкенова С.А. Мониторинг структуры популяции бурой ржавчины в Акмолинской области / Бабкенова С.А. / Генофонд и селекция. – 2013. – 1. – P. 39–47.
- 13 Gulyaeva E.I. Virulence of Puccinia triticina on Triticum and Aegilops species / Gulyaeva E.I., Shaydayuk E.L., Goncharov N.P., Akhmetova A., Abdullaev K.M., Belousova M.H., Kosman E. // Australas. Plant Pathol. – 2016. – 45 (2). – P. 155-163. <https://doi.org/10.1007/s13313-016-0395-6>.
- 14 Гультяева Е.И. Генетическая структура популяций Puccinia triticina в России и её изменчивость под влиянием растения-хозяина / Гультяева Е.И.: Диссерт. ВАК РФ 03.02.12. – 2018.
- 15 Тюнин В.А. К 80-летию селекции яровой мягкой пшеницы в Челябинском НИИ сельского хозяйства. Достижения и основные пути развития аграрной науки Южного Урала / Тюнин В.А., Шрейдер Е.Р., Бондаренко Н.П. // Сборник научных трудов. – Челябинск, 2017. – С. 133–139.
- 16 Kokhmetova A. Identification of Leaf Rust Resistance Genes in Wheat Cultivars Produced in Kazakhstan / Kokhmetova A., Madenova A., Kampitova G., Urazaliev R., Yessimbekova M., Morgounov A., Purnhauser L. // Cereal Res. Commun. – 2016. – Vol.44. – P. 240–250. <https://doi.org/10.1556/0806.43.2015.056>.
- 17 Herrera-Foessel S.A. Identification and molecular characterization of leaf rust resistance gene Lr14a in durum wheat / Herrera-Foessel S.A., Singh R.P., Huerta-Espino J., William H.M., Garcia V., Djurle A., Yuen J. // J Plant Dis. – Vol. 92, No. 3. – 2008. – P. 469–473. <https://doi.org/10.1094/PDIS-92-3-0469>.
- 18 Kumar A.A. Effect of the leaf rust resistance gene Lr28 on grain yield and bread making quality of wheat / A.A. Kumar, P. Raghavaiah // Plant Breed. – 2004. – Vol. 123. – P. 35–38. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0523.2003.00937.x>.
- 19 Шишкин Н.В. Эффективность генов устойчивости пшеницы к бурой ржавчине в условиях Ростовской области / Н.В. Шишкин, Т.Г. Дерова, Е.И. Гультяева, Е.Л. Шайдаук // Зерновое хозяйство России. – 2019. – С. 69–73

- 20 Kadkhodaei M. Identification of the leaf rust resistance genes Lr9, Lr26, Lr28, Lr34, and Lr35 in a collection of Iranian wheat genotypes using STS and SCAR markers / Kadkhodaei M., Dadkhodaie A. Assad M.T., Heidari B., Mostowfizadeh-Ghalamfarsa R. // *J Crop Sci Biotechnol.* – 2012. – 15(4). – P. 267–274. <https://doi.org/10.1007/s12892-012-0035-9>.
- 21 Schachermayr G. Molecular markers for the detection of the wheat leaf rust resistance gene Lr10 in diverse genetic backgrounds / Schachermayr G., Feuillet C., Keller B. // *Mol. Breed.* – 1997. – Vol. 3. – P. 65–74. <https://doi.org/10.1023/A:1009619905909>.
- 22 Singh P. Early Cambrian Trail Archaeonassa from the Sankholi Formation (Tal Group), Nigali Dhar Syncline (Sirmur District), Himachal Pradesh / Singh P., Bhargava O.N., Chaubey R.S., Kishore N., Prasad S.K. // *J Geol Soc India.* – 2015. – Vol. 85. – P.717–721.
- 23 Liu J.Q. Genetics of Stem Rust Resistance in Wheat Cvs. Pasqua and AC Taber / Liu J.Q., Kolmer J.A. // *Phytopathol.* – 1998. – 88 (2). – P. 171-176. doi: 10.1094/PHYTO.1998.88.2.171.
- 24 Dyck P.L. Aneuploid analysis of a gene for leaf rust resistance derived from the common wheat cultivar / Dyck P.L., Kerber E.R. // *Can J Genet Cytol.* – 1981. -Vol. 23. – P. 405–409. <https://doi.org/10.1139/g81-043>.
- 25 Урбанович О.Ю. Определение генов устойчивости к бурой ржавчине в сортах пшеницы с использованием молекулярных маркеров / Урбанович О.Ю., Малышев С.В., Долматович Т.В., Картель Н.А. // *Генетика.* – 2006. – Т. 42. – №5. – С. 675–685.

### References

- 1 Agapova, V.D., Vaganova, O.F. & Volkova, G.V. (2020). Jeftektivnost' juvenil'nyh genov ustojchivosti k vobuditelju buroj rzhavchiny ozimoj pshenicy v fazu prorostkov v uslovijah juga Rossii [Efficiency of juvenile genes for resistance to the leaf rust pathogen of winter wheat in the seedling phase in the south of Russia]. *Mezhdunarodnyj nauchno-issledovatel'skij zhurnal – International research journal*, 8, 98, 1, 163-167 [in Russian].
- 2 Babkenova S.A. (2013). Monitoring struktury populjacji buroj rzhavchiny v Akmolinskoj oblasti [Monitoring of the structure of the population of leaf rust in the Akmola region]. *Genofond i selekcija – Gene pool and breeding*, 1, 39-47.
- 3 Dyck P.L., Kerber E.R. (1981) Aneuploid analysis of a gene for leaf rust resistance derived from the common wheat cultivar. *Can J Genet Cytol.*, 23, 405–409. <https://doi.org/10.1139/g81-043>
- 4 Dinh, H.X., Singh, D., Periyannan, S., Park, R.F. & Pourkheirandish, M. (2020). Molecular genetics of leaf rust resistance in wheat and barley. *Theor. Appl. Genet.*, 133(7), 2035-2050. <https://doi.org/10.1007/s00122-020-03570-8>.
- 5 Gulyaeva, E.I., Shaydayuk, E.L., Goncharov, N.P., Akhmetova, A., Abdullaev, K.M., Belousova, M.H., Kosman, E. (2016). Virulence of *Puccinia triticina* on *Triticum* and *Aegilops* species. *Australas. Plant Pathol.*, 45 (2), 155-163. <https://doi.org/10.1007/s13313-016-0395-6>.
- 6 Gulyaeva, E.I. (2018). Geneticheskaja struktura populjacij *Puccinia triticina* v Rossii i ejo izmenchivost' pod vlijaniem rastenija-hozjaina [Genetic structure of *Puccinia triticina* populations in Russia and its variability under the influence of the host plant]. *Dissert. VAK RF 03.02.12. – Dissertation VAK RF 03.02.12.* [in Russian].
- 7 Gridneva, E.E., Kaliakparova, G.Sh. & Guseva O.S. (2018). Sovremennye tendencii razvitija rynka pshenicy v Respublike Kazahstan [Modern trends in the development of the wheat market in the Republic of Kazakhstan]. *Problemy agrorynka – Agricultural market problems*, 2, 148-154 [in Russian].
- 8 Herrera-Foessel, S.A., Singh, R.P., Huerta-Espino, J., William, H.M., Garcia, V., Djurle, A., Yuen, J. (2008) Herrera-Foessel S.A. Identification and molecular characterization of leaf rust resistance gene Lr14a in durum wheat. *92 (3)*, 469–473. <https://doi.org/10.1094/PDIS-92-3-0469>
- 9 Kadkhodaei M., Dadkhodaie A., Assad M.T., Heidari B., Mostowfizadeh-Ghalamfarsa R. (2012). Identification of the leaf rust resistance genes Lr9, Lr26, Lr28, Lr34, and Lr35 in a collection of Iranian wheat genotypes using STS and SCAR markers. *Crop Sci Biotechnol.*, 15(4), 267–274. <https://doi.org/10.1007/s12892-012-0035-9>
- 10 Koishybaev, M. (2018). *Bolezni pshenicy* [Wheat diseases]. *FAO, Ankara*, 394 [in Russian].
- 11 Koishybayev, M.K., Zhanarbekova, A.B., Kokhmetova, A.V. & Rsaliev, Sh.S. (2010). Genetic study of wheat resistance to leaf rust. *Bulletin of NAS RK*, 6, 10-15.
- 12 Koishybaev, M. (2012). Osobennosti rasprostraneniya osobo opasnyh boleznej pshenicy v Kazahstane, ustojchivost' sortov i vntrividovoe raznoobrazie patogenov [Peculiarities of the spread of especially dangerous wheat diseases in Kazakhstan, resistance of varieties and intraspecific diversity of pathogens]. *Immunogeneticheskaja zashhita sel'skohozjajstvennyh kul'tur ot boleznej. Teorija i praktika – Immunogenetic protection of crops against diseases. Theory and practice*, M., Bol'shie Vjazemy – M., Bolshije Vyazemy, 118-126 [in Russian].
- 13 Kokhmetova, A., Madenova, A., Kampitova, G., Urazaliev, R., Yessimbekova, M., Morgounov, A., Purnhauser, L. (2016). Identification of Leaf Rust Resistance Genes in Wheat Cultivars Produced in Kazakhstan. *Cereal Res. Commun.*, 44, 240–250. <https://doi.org/10.1556/0806.43.2015.056>.
- 14 Kumar A.A., Raghavaiah A. (2004). Effect of the leaf rust resistance gene Lr28 on grain yield and bread making quality of wheat. *Plant Breed.*, 123, 35–38. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0523.2003.00937.x>.
- 15 Kthiri, D., Loladze, A., N'Diaye, A., Nilsen, K.T., Walkowiak, S., Dreisigacker, S., Ammar, K. & Pozniak, C.J. (2019). Mapping of Genetic Loci Conferring Resistance to Leaf Rust From Three Globally Resistant Durum Wheat Sources. *Front. Plant Sci.*, 10:1247. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01247>.
- 16 Liu J.Q., Kolmer J.A. (1998) Genetics of Stem Rust Resistance in Wheat Cvs. Pasqua and AC Taber. *Phytopathol.*, 88 (2), 171-176. doi: 10.1094/PHYTO.1998.88.2.171

- 17 Manninger, K. (2002). Effective Resistance Genes as Sources of Resistance Against Hungarian Wheat Rust. *Czech J. Genet. Plant Breed.*, 38, 3-4, 153-154.
- 18 McIntosh, R.A.; Dubcovsky, J.; Rogers, J.M.; Xia, X.; Raupp, W.J. Catalogue of gene symbols for wheat: 2020 supplement. *Annu. Wheat Newsl.* 2020, 66, 109–128
- 19 Odintsova, I.G., Makarova, N.A. & Krupnov, V.A. (1988). Grain Cultivars with Known Disease Resistance Genes in VIR Catalogue of the World Collection. Leningrad, 12-21.
- 20 Schachermayr G., Feuillet C., Keller B. (1997). Molecular markers for the detection of the wheat leaf rust resistance gene Lr10 in diverse genetic backgrounds. *Mol. Breed.*, 3, 65–74. <https://doi.org/10.1023/A:1009619905909>
- 21 Shishkin N.V. Derova T.G., Gul'tjaeva E.I., Shajdajuk E.L. (2019). Jeffektivnost' genov ustojchivosti pshenicy k buroj rzhavchine v uslovijah Rostovskoj oblasti. *Zernovoehozjajstvo Rossii*, 69–73 <https://doi.org/10.31367/2079-8725-2019-62-2-69-73> [in Russian]
- 22 Singh P., Bhargava O.N., Chaubey R.S., Kishore N., Prasad S.K. (2015) Early Cambrian Trail Archaeonassa from the Sankholi Formation (Tal Group), Nigali Dhar Syncline (Sirmur District), Himachal Pradesh. *J Geol Soc India*, 85, 717–721
- 23 Tyryshkin L.G. & Kurbanova P.M. (2009). Indukcija jekspressii genov ustojchivosti vzroslyh rastenij k listovoj rzhavchine u prorostkov pshenicy [Induction of expression of genes for resistance of adult plants to leaf rust in wheat seedlings]. *Mikologija i fitopatologija – Mycology and phytopathology*, 43(1), 75-80 [in Russian].
- 24 Tyunin, V.A., Shreider, E.R., Bondarenko, N.P. (2017). K 80-letiju selekcii jarovoj mjadgkoj pshenicy v Cheljabinskom NII sel'skogo hozjajstva. Dostizhenija i osnovnye puti razvitija agrarnoj nauki Juzhnogo Urala [On the occasion of the 80th anniversary of the selection of spring bread wheat at the Chelyabinsk Research Institute of Agriculture. Achievements and main ways of development of agricultural science in the South Urals]. *Sbornik nauchnyh trudov, Cheljabinsk – Collection of scientific papers, Chelyabinsk*, 133–139.
- 25 Urbanovich O.Ju., Malyshev S.V., Dolmatovich T.V., Kartel' N.A. (2006) Sovremennye metody vyjavlenija genov ustojchivosti k gribnym patogenam v genome pshenicy (*Triticum aestivum* L.). *Genetika*, 42(5), 675–685