

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN
SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 4, Number 322 (2017), 109 – 118

A. K. Madenova, A. M. Kokhmetova, K. Galymbek, M. N. Atishova

Institute of Plant Biology and Biotechnology, Almaty, Kazakhstan.
E-mail: madenova.a@mail.ru

IDENTIFICATION OF CARRIERS OF LR-GENES IN ADVANCED WINTER WHEAT LINES

Abstract. DNA markers have enormous potential to improve the efficiency and precision of conventional plant breeding via marker-assisted selection (MAS). Seven carriers (Алмалы х Обрий, Наз х Обрий, Наз х ГФ55, 428 х Уманка, 428 х Уманка, BWKLDN-9 х FAW3750, №1137) and two carriers of *Lr68* gene were identified from studied genotypes from control and competitive nursery of wheat, respectively. Leaf rust resistance genes (*Lr68*, *Lr19/Sr25*, *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8* and *Lr37/Sr38/Yr17*) were identified in advanced winter wheat lines. Carriers of *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8* gene complex was found in 2 genotypes: BWKLDN-9 х FAW3750, 428g х МК-122. The identified wheat genotypes have shown high productivity and resistance to leaf rust. These carriers of *Lr*-genes can be used in breeding programs to forming resistant wheat cultivars to leaf rust.

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

ӨОЖ 632.42:633:576.3/7.086.83:581.4

A. K. Маденова, А. М. Кохметова, Қ. Ғалымбек, М. Н. Атишова

Өсімдіктер биологиясы және биотехнологиясы институты, Алматы, Қазақстан

БОЛАШАҒЫ БАР КҮЗДІК БИДАЙ ЛИНИЯЛАРЫНАН ТӨЗІМДІЛІК LR-ГЕНІНІҢ ТАСЫМАЛДАУШЫЛАРЫН ИДЕНТИФИКАЦИЯЛАУ

Аннотация. Қазіргі таңда ДНҚ-технологияны селекцияда қолдану селекциялық үрдістің тиімділігін жоғарылату үшін маңызды әдістердің бірі болып табылады. MAS (Marker assisted selection – маркер арқылы селекция) селекциясының әртүрлі сызбаның көмегімен гендерді идентификациялау дәстүрлі селекциямен салыстырғанда сұрыптау көлемін азайтуға, беккрос жүргізу уақытын және бөгде фрагменттің ұзындығын бақылауға мүмкіндік береді. Болашағы бар күздік бидай линияларын қоңыр татқа төзімділік (*Lr68*, *Lr19/Sr25*, *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8* және *Lr37/Sr38/Yr17*) гендері идентификацияланды. Бақылау тәлімбағынан *Lr68* гені бар 7 линия (Алмалы х Обрий, Наз х Обрий, Наз х ГФ55, 428 х Уманка, 428 х Уманка, BWKLDN-9 х FAW3750, №1137) анықталды. Конкурстық сортсынаудан 2 линия (428g х МК-122А, 425 х ГФ55) *Lr68* генінің тасымалдаушысы екендігін көрсетті. *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8* ген кешені 2 линияда BWKLDN-9 х FAW3750, 428g х МК-122 идентификацияланды. Сонымен қатар, іріктелген болашағы бар бидай линиялары өнімділігі мен және қоңыр татқа төзімділігімен ерекшеленді. Идентификацияланған *Lr*-ген тасымалдаушыларын болашақта жаңа сорт шығаруда қолданылуда болады.

Түйін сөздер: пшеница, бурая ржавчина, гены устойчивости, молекулярные маркеры.

Кіріспе. Бидай адам рационындағы ақуыздың аса маңызды көзінің бірі болып табылады. Ол халықтың 35%-ның негізгі өнімі ретінде және әлем бойынша тұтынылатын калорияның шамамен 20%-ын қамтиды [1]. Патогендер мен зиянкестерден болған залал бидай өндірісіне елеулі әсерін тигізеді. Аса кең тараған аурулардың біріне *Puccinia tritici* саңырауқұлағынан туындалған қоңыр тат жатады, ол адамзат тарихының барысында тұтастай елдердің ашаршылығы мен экономикасының күйреуін тудырып отырған [2].

Жоғары деңгейдегі азық-түліктік қауіпсіздіктің негізгі критериіне дәнді дақылдардың, май мен өзге ауылшаруашылық өнімдерінің тұрақты ұдайы өндірісі жатады. Орталық Азия өңірі бидайдың аса маңызды әлемдік өндірушілерінің бірі болып табылады, оның өсірілу ауданы 15 млн. га құрауда. Осы аймақта кейінгі жылдары бидайдың қоңыр таты *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* тарап кетті, ол дәннің сапасын төмендетумен елеулі экономикалық нұқсан келтіруде. 2001-2002 жж. індет кезінде бидайдың шығымдылығы жоғары және кеңінен өсірілетін сорттарының басым көпшілігі қоңыр татпен едәуір дәрежеде зақымдалып отырды.

Осы орайда, Қазақстанның агроөнеркәсіп кешенінің басты міндеттерінің біріне стратегиялық маңызды ауылшаруашылық дақылдарының шығымдылығы мен сапасын арттыру қажет. Әлем бойынша бидай дәнінің жылдық өндірісі шамамен 600 млн. т. құрайды, 2020 жылға қарсы тұтыну деңгейі 840 млн. т. бастап 1000 млн. т. дейін жетеді деп болжануда. Халықаралық сарапшылардың пікірінше, әлем бойынша бидайдың егістік алқаптары азаюда, ал дамыған елдердің көпшілігінде бидайдың шығымдылығы шекті деңгейіне жетті. БҰҰ Азық-түлік және ауылшаруашылық ұйымы (Food and Agriculture Organization – FAO) сарапшыларының баға беруі бойынша, ауылшаруашылық дақылдарының аурулары мен зиянкестерінен болатын өнімнің жыл сайынғы әлемдік шығыны 1986-1990 жж. 52,2 млн. шартты астық бірлігінен бастап 1998-2005 жж. 70 млн. тоннаға дейін жетті. Олардың зиянкестігінің осыған ұқсас күшеюі Қазақстанда байқалуда. Жыл сайын ҚР-да шамамен 15,5 млн. гектар жерге бидай егіліп және шамамен 17-18 млн. тонна астық өндіріледі, оның шамамен 8 млн. тоннасы экспортқа шығарылады. Сонымен қатар республикадағы түрлі аурулардан бидай өнімінің шығыны кейінгі жылдары 25-30%-ға дейін жетті. Өнімнің шығыны – бұл экономикалық фактор және ол ауылшаруашылық өндірісінің тұрақты дамуына қатты әсер етеді [3]. Қазіргі таңда ауруларға төзімділікті бақылау үшін, дәстүрлі селекциялық әдістермен қатар заманауи молекулалық тәсілдерді қолдану қажет. Осы мақсатқа жету үшін төзімділік белгілерімен байланысқан молекулалық маркерлер пайдаланылды.

Lr19, *Lr24*, *Lr29* гендерінің ген көзі *Agropyron elongatum* (*Thinopyron elongatum*) болып табылады. Гендердің транслокация келесі түрде жүзеге асырылды: *Lr19* гені – 7DL хромосомасына, *Lr24* – 3D, *Lr29* – 7DS [4,5, 6]. Украинада *Lr19* гені жоғары тиімді болып табылады. Бұл жерде патогеннің популяциясында вируленттік жоқ. Мұндай сирек түрде пайда болып отыратын вируленттік патотиптер әзірше агрессивтілік сипатқа ие емес және осы геннің тасымалдаушылары үшін қауіп төндірмейді [7]. *Lr19* генінің Ресейдің Волго-Вятск өңіріндегі тиімділігінің жоғалуы туралы ақпарат бар [8]. Осы генге вируленттік Ұлыбританияда, Венгрияда, Румынияда анықталған [9].

Lr26 генінің көзі *Secale cereale* қарабидай болып табылады [10, 11]. *Lr26* гені 1B хромосомасына интрогрессияланды. Бидай селекциясында қарабидай транслокациялары кеңінен пайдаланылады, себебі олар биотикалық және абиотикалық күйзелістерге төзімділікті қамтамасыз етеді. Қарабидай транслокацияларына ие линиялардың потенциалы мен суды пайдалану тиімділігінің артуы жайлы мәліметтер бар. Дегенмен өнімділік пен ауруға төзімділігі генетикалық және қоршаған ортаның жағдайларына байланысты. Singh 1998 жылы өзінің әріптестерімен су күйзелісін моделдеу жағдайында және қалыпты ылғалдылық кезінде күздік бидайдың 8 линиясына 1BL/1RS қарабидай транслокациясының әсерін зерттеді [12]. Суарудың қалыпты жағдайында 1B линиясының орташа өнімділік 1BL/1RS тасымалдаушы линияларға қарағанда жоғары, ал су күйзелісі жағдайында ешқандай айырмашылық байқалмады.

Ehdaie 2003 жылы өзінің әріптестерімен күздік бидайдың Pavon сортындағы 1RS транслокациясының болуы үлкен биомассаның және суару жағдайында өнімділіктің жоғары болуымен корреляцияланатындығын айтты [13]. Қарабидай транслокациясының ауруға төзімді бірқатар гендермен байланысқандығы (*Lr26*, *Sr31*, *Yr9* және *Pm8*) және құрғақшылыққа төзімділікке кіретін, кешенді бейімделген сипаттаманы қамтамасыз ететіндігі туралы мәліметтер бар [14].

Lr37 генінің көзі *Aegilops ventricosa* болып табылады. Бұл генді Бариана мен Макинтош 1991 жылы идентификациялап және 2AS хромосомасына жинақтады [15]. Бұл геннің тасымалдаушылары ювенильді фазада залалданады, сондай-ақ өскен сайын төзімділігін байқата бастайды [16]. Татқа төзімділіктің үш генін қамтыған ұзын хромосомалық бөлік (25-38 см) 2NS хромосоманың қысқа иықтарының арасында *Triticum ventricosum*-нен жұмсақ бидайдың 2AS хромосомасына көшірілді. Бұл сегмент ауруларға төзімділіктің үш генін қамтыған: қоңыр, сары және сабақты татқа төзімді соған сәйкес *Lr37*, *Yr17* және *Sr38* гендері. 2NS бөлігі алғаш рет бидайдың VPM сорттарына ин-

трогрессияланды, ал артынша ол Madsen және Thatcher сияқты өзге коммерциялық сорттарға көшірілді [17, 18].

СИММИТ-тің ғалымдар тобымен бидайдың Parula (FKN/3/2*Frontana//Кения350AD.9C.2/Gabo55/4/Bluebird/Chanate) сортында *Lr68* APR-гені индетификацияланып, 7B хромосоманың ұзын иығында орналастырылды. Бұрында ол *LrP* деп аталған. *Lr68* генін фланкирлейтін молекулалық маркерлер анықталды, оларды маркерлік селекцияда қолдануға болады. Parula сортын СИММИТ ғалымдары 1981 жылы шығарған, ол сондай-ақ *Lr34* және *Lr46* сияқты APR-тұрақтылық гендерін біріктірген [19-21]. *Lr68* генінің шығу тегіне Frontana бразильялық сортына жатуы мүмкін [22].

ДНҚ-технологияларды әзірлеу бойынша кең ауқымды зерттеулерді жүргізудің қажет екендігі туралы қорытынды жасауға мүмкіндік берді. Бұл бидай сорттарының таттан қандай гендермен қорғалғандығына байланысты әр өңдеу факторының генотипке әсерін анықтауға болады.

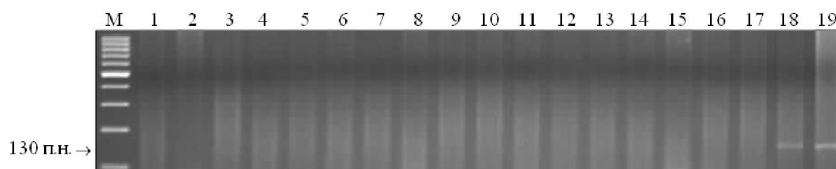
Зерттеу әдістері мен материалдар. Зерттеу нысаны ретінде бақылау тәлімбағындағы (БТ) 14 бидай линия және конкурстық сортсынаудан (КСС) 7 линия алынды. Қоңыр тат патогеніне дифференциатор ретінде Канадада Thatcher сортының негізіндегі шығарылған изогенді *Lr*-линиялардың сериясы қолданылды. ҚазЕОШҒЗИ (Алмалыбақ, Қарасай ауданы, Алматы обл.) далалық жағдайында бидай линияларының қоңыр татқа ауруына төзімділігіне генетика-селекциялық және фитопатологиялық баға беру жүргізілді.

Дәнді дақылдардың морфологиялық белгілері мен өнімділік көрсеткіштерін анықтау селекция мен тұқым зерттеу әдістемелік нұсқаулары бойынша жүзеге асырылды [23].

Геномдық ДНҚ бидайдың 5 күндік өскінінен СТАВ әдісінің негізінде бөлінді [24]. Тұрақтылық гендерінің тасымалдаушыларын идентификациялау үшін X.M.Chen et al. хаттамасына сәйкес полимеразды тізбектік реакция (ПТР) әдісі қолданылды. Амплификация өнімдерінің өлшемдері Gene Mapper Software 4.0 (Applied Biosystems) программасы арқылы және аллельдердің өлшемі программалық жабдық арқылы анықталды [25]. Амплификация BioRad (T100, АҚШ) амплификаторында орындалды.

ПТР-ға арналған реакциялық қоспаның мөлшері 10 мкл құрады және онда Тақ-полимераза үшін 1 мкл 10x буфер, 1 мкл dNTP, 0,2 мкл әрбір праймер, 0,2 мкл Тақ-полимераза, 6,4 мкл MQ-H₂O болды. ДНҚ фрагментінің бөлінуі 2%-дық агарозалық геледе горизонтальды электрофорезде (SCIE-PLAS) жүзеге асырылды.

Нәтижелер мен талқылаулар. Зерттеу жұмысында болашағы бар күздік бидай линияларына қоңыр татқа төзімді (*Lr68*, *Lr19/Sr25*, *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8* және *Lr37/Sr38/Yr17*) гендері идентификацияланды. Амплификацияланған ДНҚ үзінділерін ажырату үшін электрофорез 2% агарозалы гелде жүргізілді. Өлшемі 130 н.ж. құрайтын *Lr19/Sr25*-ке арналған Gb R/F маркерін амплификациялау өнімі тек бақылауларда ғана көрсетті. (1-сурет). Бидайдың қалған генотиптерінің амплификация өнімдерінде сипатты фрагмент түзілмеді.

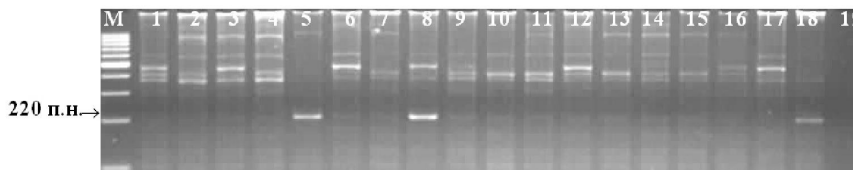


M - маркердің молекулалық салмағы (Gene- Ruler 100bp DNA Ladder); 1 - 1137, 2 - Адир x Yr2, 3 - 425 x Обрий, 4 - BDME x Yr2, 5 - Санзар x BWKLDN9, 6 - Бермет x MK3797, 7 - Кунава x Avocet (S), 8 - Таза x MK3750, 9 - Санзар x Анза, 10 - Тилек x KLDN-33, 11 - Наз x ГФ55, 12 - Алмалы x ГФ92, 13 - 428g x MK-122A, 14 - Yr2 x Октябрина, 15 - 425 x ГФ55, 16 - 425 x Ренан, 17 - Наз x ГФ55, 18 - оң бақылау *Lr19* (TC*7/Tr (RL6040), 19 - оң бақылау, *Sr25* (LcSr25Avs)

1-сурет – STS типті Gb F/R маркерді қолданып *Lr19/Sr25* кешенді гендерін идентификациялау

Қара бидай транслокациясы селекцияда кеңінен қолданылады, себебі олар абиотикалық және биотикалық күйзелістерге төзімді болып саналады. *Lr26*, *Sr31*, *Yr9* және *Pm8* гендері I хромосоманың қысқа иығында орналасқан, және қоңыр, сары, сабақты, ақұнтақ ауруларына жауапты екені белгілі [26]. 1BL/1RS транслокациясын идентификациялау үшін SCM9 F/R праймерін қолданып ПТР амплификациясы WheatCap сайтында көрсетілген протокол бойынша жүргізілді [2]. 1BL/1RS

қарабидай транслокциясы ген тасымалдаушыларын идентификациялау барысында оң бақылау ретінде Seri-82 сорты қолданылды. ПТР жүргізу нәтижесінде күтілетін амплификация өнімінің молекулалық салмағы 220 ж.н. құрады. 2-ші суретте 17 бидай линияларының генотиптері көрсетілген (2-сурет). Зерттеу нәтижесінде *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8* кешенді гені бар BWKLDN-9 x FAW3750, F₅428g x МК-122А линиялары ерекшеленді.



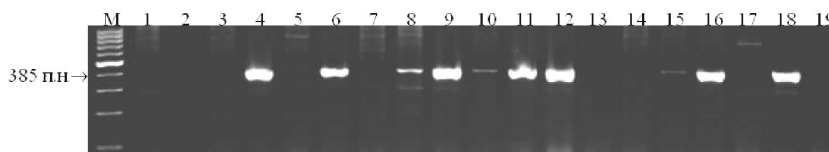
М - маркердің молекулалық салмағы (Gene- Ruler 100bp DNA Ladder); 1 - F₇ Yr2 x Октябрина, 2 - F₅ Наз x ГФ55, 3 - F₅425x ГФ55, 4 - F₅425x Ренан, 5 - BWKLDN-9 x FAW3750, 6 - Parula, 7 - F₅ N91 x 5347, 8 - F₅428g x МК-122А, 9 - F₅5221x Алмалы, 10 - F₅5221x Алмалы, 11 - F₅5221x Алмалы, 12 - F₅ Avs x Naz 272, 13 - F₅ Avs x Наз 272, 14 - F₅ Avs x Наз 272, 15 - F₅Parula x 293a, 2006, 16 - F₅ Parula x 293a, 2006, 17 - F₅ Parulax 293a, 2006, 18 - Seri 82 (оң бақылау), 19 - теріс бақылау, ddH₂O

2-сурет – STS типті SCM9 маркерді қолданып *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8* кешенді гендерін идентификациялау

Lr37 гені 2AS хромосомасында шоғырланған, ген көзі ретінде *Triticum ventricosum*, тестеріне VPM1 линиясы жатады. *Lr37* гені *Sr38* және *Yr17* гендерімен тіркескен [27-29]. *Lr37* генін тасымалдаушыларды сәйкестендіру үшін LN/Ventriup CAPS праймерлерін қолданумен ПТР амплификациясы жүргізілді. Оң бақылау ретінде *Lr37* сәйкестендірілген төзімділік гені бар америкалық Madsen сорты, ал теріс бақылау ретінде – ddH₂O қолданылды. Амплификацияланған ДНҚ үзінділерін ажырату үшін электрофорез 2% агарозалы гелінде жүргізілді. Madsen сортын оң бақылауын санамағанда, бидайдың зерттелген 38 генотипінің бірде-бір линиясында татқа қарсы *Lr37/Yr17/Sr38* төзімділік гендері кешенінің болуын көрсететін, өлшемі 262 н.ж. құрайтын ДНҚ үзіндісі табылмады.

Lr68 гені бидайдың қоныр татының баяу дамуы қамтамасыз ететін жасқа байланысты төзімділік гені (APR) болып табылады. *Lr68* гені 7BL хромосомасында шоғырланған, геннің шығу тегі *Triticum aestivum* [30]. *Lr68* генін тасымалдаушыларды сәйкестендіру үшін csGS-F/RSTS маркерін қолданумен ПТР амплификациясы жүргізілді. Оң бақылау ретінде *Lr68* сәйкестендірілген төзімділік геніне ие Parula сорты, теріс бақылау ретінде – ddH₂O қолданылды. Амплификацияланған ДНҚ үзінділерін ажырату үшін электрофорез 2% агарозалы гелінде жүргізілді. Өлшемі 385 ж.н. құрайтын *Lr68* геніне арналған амплификациялау өнімдері бақылау БТ тәлімбағының 7 болашағы бар линиясынан және конкурстық сортсынау КСС тәлімбағының жаңа линияларынан 2 үміткер табылды (3-сурет).

Бірінші кестеде бақылау БТ және конкурстық сортсынау КСС тәлімбақтарының константалық сұрыптарын, будандық формаларымен болашағы бар линияларын қамтитын бидайдың 38 линиясына *Lr68* және *Lr19/Sr25*, *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8*, *Lr37/Sr38/Yr17* кешендері төзімділік гендерімен ілініскен молекулалық маркерлерді қолданумен молекулалық скрининг жүргізудің нәтижелері көрсетілген.



М - Маркердің молекулалық салмағы (Gene- Ruler 100bp DNA Ladder) ; 1 - 428g x МК-122А, 2 - Наз x ГФ55; 3 - Алмалы x ГФ92; 4 - Алмалы x Обрий; 5 - Наз x Иммуn78; 6 - Наз x Обрий; 7 - Наз x Обрий; 8 - Наз x ГФ55; 9 - Наз x ГФ55; 10 - 425 x Обрий; 11 - 428 x Уманка; 12 - 428 x Уманка; 13 - 425 x Уманка; 14 - 425 x ГФ55; 15 - Купава x Avocet (S); 16 - BWKLDN-9 x FAW3750; 17 - Yr2 x Адир; 18 - Parula (оң бақылау); 19 - теріс бақылау, ddH₂O

3-сурет – STS типті csGS-F/R маркерді қолданып *Lr68* генін идентификациялау

1-кесте – Селекциялық материалға *Lr68*, *Lr37*, *Lr26* және *Lr19* төзімді
ген тасымалдаушыларының молекулалық скрининг нәтижелері

№	Бидай линиялары мен сорттардың атауы	<i>Lr19</i> праймер – GbF/R	<i>Lr26</i> 1BL/RS, праймер – SCM9 F/R	<i>Lr37</i> праймер – LN2/Ventriup F/R	<i>Lr68</i> праймер – csGsF/R
Бақылау тәлімбағы (БТ)					
1	428g x МК-122А	–	–	–	–
2	Наз x ГФ55/1	–	–	–	–
3	Алмалы x ГФ92/1	–	–	–	–
4	Алмалы x Обрий	–	–	–	385п.н
5	Наз x Иммун78	–	–	–	–
6	Наз x Обрий/2	–	–	–	385п.н
7	Наз x Обрий/3	–	–	–	–
8	Наз x ГФ55/1	–	–	–	–
9	Наз x ГФ55/2	–	–	–	385п.н
10	425 x Обрий	–	–	–	–
11	428 x Уманка/1	–	–	–	385п.н
12	428 x Уманка/2	–	–	–	385п.н
13	425 x Уманка/3	–	–	–	–
14	425 x ГФ55	–	–	–	–
15	Қупава x Avocet (S)	–	–	–	–
16	BWKLDN-9 x FAW3750	–	220 п.н.	–	385п.н
17	Үг2 x Адир	–	–	–	–
18	Наз x ГФ55/4	–	–	–	–
19	Алмалы x ГФ92/2	–	–	–	–
20	1137	–	–	–	385п.н
21	Адир x Үг2	–	–	–	–
22	425 x Обрий	–	–	–	–
23	BDME x Үг2	–	–	–	–
24	Санзар x BWKLDN9	–	–	–	–
25	Бермет x МК3797	–	–	–	–
Конкурстық сортсынау тәлімбағы (КСС)					
26	А-А р-к x Progress	–	–	–	–
27	Қупава x Avocet (S)/1	–	–	–	–
28	Қупава x Avocet (S)/2	–	–	–	–
29	Таза x МК3750?	–	–	–	–
30	Санзар x Анза	–	–	–	–
31	Тилек x KLDN-33	–	–	–	–
32	Наз x ГФ55	–	–	–	–
33	Алмалы x ГФ92	–	–	–	–
34	428g x МК-122А	–	220 п.н.	–	385п.н
35	Үг2 x Октябрина	–	–	–	–
36	425 x Ренан	–	–	–	–
37	Наз x ГФ55	–	–	–	–
38	425 x ГФ55	–	–	–	385 bp

Болашақта жаңа сорт шығарылатын тәлімбақтардағы линиялардан (БТ, КСС) *Lr*-гендерге ие болған және өнімділігі жоғары болашағы бар линиялар іріктеп алынды. Бақылау тәлімбағынан (БТ) 7 линия (Алмалы х Обрий, Наз х Обрий, Наз х ГФ55, 428 х Уманка, 428 х Уманка, BWKLDN-9 х FAW3750, №1137), ал конкурстық сортсынаудан (КСС) 2 линия (428g х МК-122А, 425 х ГФ55) *Lr68* генінің тасымалдаушылары болып табылды. BWKLDN-9 х FAW3750, 428g х МК-122А болашағы бар линияларында *Lr68* және *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8* гендері идентификацияланды. Идентификацияланған *Lr*-ген тасымалдаушыларын болашақта жаңа сорт шығаруда қолданылып соңғы жылдық сынақтан өтіп жатыр.

Өсімдіктің биіктігі бойынша ең ұзыны 134 см F5 Наз/ГФ55 линиясында анықталды, ең төменгі көрсеткіш F5 425/ Ренан линиясында байқалды ұзындығы 76 см болды.

Өнімділігі бойынша стандарт сорт Пиротрикс 50 сортынан 2,0–12,9 ц/га, яғни түсімі сәйкесінше 3,4% және 22,0%-ға ең жоғары F5 425/ГФ55 линия іріктеліп алынды (2-кесте)

2-кесте – Конкурстық сортсынаудағы линиялардың өнімділігі бойынша құрылымдық анализ мен фитопатологиялық бағалауы, Алмалыбақ

Тәлімбақ	Каталог №	Атауы	Масақтау күні	Өсімдіктің ұзындығы, см	Қоңыр татқа төзімділігі	Өнімділік, ц/га	St-тан ауытқуы	Масақтың ұзындығы, см	Масақтағы масақтау саны, дана	Масақтағы дән саны, дана	Масақтағы дән салмағы, г	1000 дәннің салмағы, г
КСС		Пиротрикс 50St		112	50S	58,5	-	10,18	19,18	47,75	2,26	43,44
КСС	371	F6 Taza / МК3750	20.05.	90	20S	67,3	+8,8	11,77	21,29	51,43	2,79	55,01
КСС	1016	F5 Наз/ГФ55	20.05.	100	5MR	65,6	+7,1	14,03	24,43	67,14	3,19	47,38
КСС	1024	F5 Алмалы /ГФ 92	22.05.	96	40MS	63,45	+4,95	11,64	20,1	59,5	3,15	53,03
КСС	1055	F5 428g/МК -122А	22.05.	86	0	67,4	+8,9	12,7	23,3	60,1	2,51	41,67
КСС	1070	F5 Наз/ГФ55	18.05.	134	30MS	65,4	+6,9	10,96	19,96	46,22	2,15	42,76
КСС	1090	F5 425/ Ренан	22.05.	76	20MS	60,5	+2,0	8,05	17,79	37,08	1,75	43,36
КСС	1102	F5 425/ГФ55	22.05.	93	0	71,4	+12,9	12,93	23,43	66,87	3,45	47,28
Орташа қателік m			–	13,10	–	8,02	0,96	0,61	0,71	2,91	0,33	3,81
Тәжірибенің нақтылығы m%			–	49,13	–	43,99	63,29	0,64	0,40	0,64	1,50	0,98
Қателік айырымы md			–	18,47	–	11,30	1,35	0,86	1,00	1,11	0,47	5,37
Ең елеулі айырмашылық EEA 0,95			–	38,79	–	23,74	2,83	1,81	2,09	8,62	0,98	11,27

Қоңыр татқа төзімділік F5 428g/МК -122А, F5 425/ГФ55, F5 Наз/ГФ55 (0-5MR) линияларында байқалды. F5 Алмалы /ГФ 92, F5 Наз/ГФ55, F5 425/ Ренан (20MS-40MS) линиялары қалыпты төзімсіздік, ал F6 Taza/МК3750 линиясы төзімсіздік көрсетті (4-сурет).

Сонымен, жоғары өнімділігі мен қоңыр татқа жоғары төзімділігі үйлескен бидай линияларынан конкурстық сортсынау (КСС) тәлімбағынан – 7 линия іріктеліп алынды, олардың ішінде F6 Taza / МК3750, F5 Наз/ГФ55, F5 Алмалы /ГФ 92 F5 428g/МК -122А, F5 Наз/ГФ55, F5 425/ Ренан және F5 425/ГФ55. Конкурстық сортсынау тәлімбағынан іріктелініп алынған линиялар келешекте өнімді және қоңыр татқа төзімді жаңа сорт шығаруда зерттеліп жатыр.

Қорытынды. Селекциялық процестің соңғы кезеңіндегі (БТ, КСС) бидай линияларын молекулалық скринингтің негізінде *Lr*-гендерге ие болған және өнімділігі жоғары болашағы бар линиялар іріктеп алынды. Бақылау тәлімбағынан *Lr68* гені бар 7 линия (Алмалы х Обрий, Наз х Обрий, Наз х ГФ55, 428 х Уманка, 428 х Уманка, BWKLDN-9 х FAW3750, №1137) анықталды. Конкурстық сортсынаудан 2 *Lr68* генінің тасымалдаушысы (428g х МК-122А, 425 х ГФ55) табылды. *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8* ген кешені 2 линияда BWKLDN-9 х FAW3750, 428g х МК-122 идентификацияланды. Фитопатологиялық бақылау бойынша қоңыр татқа төзімділік F5 428g/МК -122А,



4-сурет – Күздік бидай линияларының қоңыр тат ауруымен залалдану реакциясы

F5 425/ГФ55, F5 Наз/ГФ55 (0-5MR) линияларында байқалды. F5 Алмалы /ГФ 92, F5 Наз/ГФ55, F5 425/ Ренан (20MS-40MS) линиялары қалыпты төзімсіздік, ал F6 Taza/MK3750 линиясы төзімсіздік көрсетті. Іріктелген болашағы бар бидай линиялары өнімділігі мен және қоңыр татқа төзімділігімен ерекшеленеді. Идентификацияланған *Lr*-ген тасымалдаушыларын болашақта жаңа сорт шығаруда қолданылып соңғы жылдық сынақтан өтіп жатыр.

ӘДЕБИЕТ

- [1] Morgounov A. Wheat exchange network breeds new life into varietal development. <http://www.cymmyt.org>. 14.05.2012.
- [2] Agrios G. Plant Pathology / Fifth Edition. California: Academic Press, 2005. – 462 p.
- [3] Жиенбаев Ж. Дәнді дақылдардың аурулары. – Алматы, 1974. – 234 б.

- [4] Vanzetti L.S., Campos, P., Demichelis, M., Lombardo, L.A., Aurelia, P.R., Vaschetto, L.M., Bainotti, C.T., Helguera, M. Identification of leaf rust resistance genes in selected Argentinean bread wheat cultivars by gene postulation and molecular markers // *Electronic Journal of Biotechnology*. – 2011. – Vol. 14 (3). – P. 1-17.
- [5] Elouafi I., Nachit M.M., Martin L.M. Identification of a microsatellite on chromosome 7B showing a strong linkage with yellow pigment in durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. durum) // *Hereditas*. – 2001. – Vol. 135 (2-3). – P. 255-261.
- [6] McIntosh R.A. Inheritance of leaf rust and stem rust resistances in wheat cultivars Agent and Agatha // *Australian Journal of Agricultural Research*. – 1977. – Vol. 28. – P. 37-45.
- [7] Huerta-Espino J. Analysis of wheat leaf rust and stem rust virulence on a worldwide basis: PhD Thesis. / University of Minnesota, – USA, 1992. 50 p.
- [8] Плотнокова Л.Я. Клеточные особенности иммунной реакции мягкой пшеницы с геном Lr19 на заражение возбудителем бурой ржавчины // *Цитология*. – 2008. – Т. 50, № 2. – С. 124-131.
- [9] Вьюшков А.А. Селекция яровой мягкой и твердой пшеницы в Среднем Поволжье: автореф. ... док. с.-х. наук: 06.01.05. – Базенчук, 1998. – 66 с.
- [10] Long D.L., Leonard K.J., Hughes M.E. Virulence of *Puccinia triticiana* on wheat in the United States from 1996 to 1998 // *Plant Disease*. – 2000. – Vol. 84. – P. 1334-1341.
- [11] Abdul S. D. Identification of the genes Lr17 and Lr26 for resistance to leaf rust (*Puccinia triticina*) in some European wheat cultivars // *Emirates Journal of Food and Agriculture*. – 2011. – Vol. 23 (4). – P. 311-319.
- [12] Mago R., Spielmeier W., Lawrence G.J., Lagudah E.S., Ellis J.G., Pryor A. Identification and mapping of molecular markers linked to rust resistance genes located on chromosome 1RS of rye using wheat-rye translocation lines // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2002. – Vol. 104 (8). – P. 1317-1324.
- [13] Singh R.P., Huerta-Espino J., Rajaram S., Crossa J. Agronomic effects from chromosome translocations 7DL.7 Ag and 1BL.1RS in spring wheat // *Crop Science*. – 1998. – Vol. 38 – P. 27 – 33.
- [14] Ehdaie B., Whitkus R.W., Waines J.G. Root biomass, water-use efficiency, and performance of wheat-rye translocations of chromosomes 1 and 2 in spring bread wheat 'Pavon' // *Crop Science*. – 2003. – Vol. 43. – P. 710 – 717.
- [15] Schnurbusch T., Paillard S., Schori A., Messmer M., Schachermayr G., Winzeler M., Keller B. Dissection of quantitative and durable leaf rust resistance in Swiss winter wheat reveals a major resistance QTL in the Lr34 chromosomal region // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2004. – Vol. 108. – P. 477-484.
- [16] Bariana H.S., McIntosh R.A. Cytogenetic studies in wheat XIV. Location of rust resistance genes in VPM1 and their genetic linkage with other disease resistance genes in chromosome 2A // *Genome*. – 1993. – Vol. 36. – P. 476-482.
- [17] Maia N. Obtention des bles tendres résistants au pictin-verse par croisements interspécifiques bles × *Aegilops* // *Comptes Rendus des Séances de l'Académie d'Agriculture de France*. – 1967. – Vol. 53. – P. 149-154.
- [18] Robert O., Abelard C., Dedryver F. Identification of molecular markers for the detection of the yellow rust resistance gene Yr17 in wheat // *Molecular Breeding*. – 1999. – Vol. 5. – P. 167-175.
- [19] Seah S., Spielmeier W., Jahier J., Sivasithamparan K., Lagudah E.S. Resistance gene analogs within an introgressed chromosomal segment derived from *Triticum ventricosum* that confers resistance to nematode and rust pathogens in wheat // *Molecular and Plant Microbe Interactions*. – 2000. – Vol. 13. – P. 334-341.
- [20] William H.M., Hoisington D., Singh R.P., Gonzalez de Leon D. Detection of quantitative trait loci associated with leaf rust resistance in bread wheat // *Genome*. – 1997. – Vol. 40. – P. 253-260.
- [21] William H.M., Singh R.P., Huerta-Espino J., Rosewarne G., Buck H.T., Nisi J.E., Salomon N. Characterization of genes for durable resistance to leaf rust and yellow rust in CIMMYT spring wheats // *Developments in Plant Breeding. «Wheat production in stressed environments»*. – Dordrecht. The Netherlands, 2007. – Vol. 12. – P. 65-70.
- [22] Herrera-Foessel S.A., Singh R.P., Huerta-Espino J., Lagudah E.S. Characterization and mapping of a gene component for durable leaf rust resistance in chromosome arm 7BL // *Phytopathology*. – 2009. – Vol. 99. – P. 53-55.
- [23] Гуляев Г.В., Гужов Ю.Л. Селекция и семеноводство полевых культур – Москва: Агропромиздат, 1987. – 444 с.
- [24] Riede, C.R., and Anderson, J.A. Linkage of RFLP markers to an aluminum tolerance gene in wheat // *Crop Sci.* – 1996. – Vol. 36. – P. 905-909. Doi: 10.2135/cropsci1996.0011183X0036000400015x.
- [25] Калмыков М.В., Белоусова Р.В. Основы полимеразной цепной реакции с разными форматами детекции: учебное пособие / под ред. М.С. Калмыкова – СПб.: Лань, 2009. – 31 с.
- [26] Долматович Т.В., Булойчик А.А. Маркирование генов устойчивости *Lr26*, *Sr31*, *Sr50* и *Pm8/Pm17* у мягкой озимой пшеницы // *Биоинженерия. Трансгенные технологии*. – Минск: БГУ. – 2013. – P. 227.
- [27] Рсаилов А.С. Жаздық қатты бидай (*Triticum durum* Desf) сорт-линияларының тат ауруларына төзімділігі. // Ауыл шаруашылығы ғылымдарының кандидаты дәрежесін алу үшін дайындалған диссертацияның авторефераты. 06.01.05 Селекция және тұқым шаруашылығы, Қазақстан. – 2009. – С. 25
- [28] Kerber E.R., Dyke P.L. Transfer to hexaploid wheat of linked genes for adult-plant leaf rust and seedling stem rust resistance from amphiploid of *Aegilops speltoides* × *Triticum monoccum* // *Genome*. – 1990. – Vol. 33. – P. 530-537.
- [29] Gold J., Harder D., Townley-Smith F., Aung T., Procinier J. Development of a molecular marker for rust resistance genes *Sr39* and *Lr35* in wheat breeding lines // *Electronic Journal of Biotechnology*. – 1999. – Vol. 2, №1.
- [30] Lagudah E.S., Krattinger S.G., Herrera-Foessel S., Singh R.P., Huerta-Espino J., Spielmeier W., Brown-Guedira G., Selter L.L., Keller B. Gene-specific markers for the wheat gene Lr34/Yr18/Pm38 which confers resistance to multiple fungal pathogens // *Theor Appl Genet*. – 2009. – Vol. 119 – P. 889–898.

REFERENCES

- [1] Morgounov A. Wheat exchange network breeds new life into varietal development. <http://www.cymmyt.org>. 14.05.2012.
- [2] Agrios G. *Plant Pathology* / Fifth Edition. California: Academic Press, 2005. – 462 p.

- [3] Zhihenbaev Zh. Dəndi daqyldardyn auralary. – Almaty, 1974. – 234 b.
- [4] Vanzetti L.S., Campos, P., Demichelis, M., Lombardo, L.A., Aurelia, P.R., Vaschetto, L.M., Bainotti, C.T., Helguera, M. Identification of leaf rust resistance genes in selected Argentinean bread wheat cultivars by gene postulation and molecular markers // *Electronic Journal of Biotechnology*. – 2011. – Vol. 14 (3). – P. 1-17.
- [5] Elouafi I., Nachit M.M., Martin L.M. Identification of a microsatellite on chromosome 7B showing a strong linkage with yellow pigment in durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. durum) // *Hereditas*. – 2001. – Vol. 135 (2-3). – R.255-261.
- [6] McIntosh R.A. Inheritance of leaf rust and stem rust resistances in wheat cultivars Agent and Agatha // *Australian Journal of Agricultural Research*. – 1977. – Vol. 28. – R.37-45.
- [7] Huerta-Espino J. Analysis of wheat leaf rust and stem rust virulence on a worldwide basis: PhD Thesis: / University of Minnesota, – USA, 1992. 50 r.
- [8] Plotnikova L.Ja. Kletochnye osobennosti immunoj reakcii mjagkoj pshenicy s genom Lr19 na zarazhenie vzbuditelem buroj rzhavchiny // *Citologija*. – 2008. – T. 50, № 2. – S. 124-131.
- [9] V'jushkov A.A. Selekcija jarovoj mjagkoj i tvrdoj pshenicy v Srednem Povolzh'e: avtoref. ... dok. s.-h. nauk: 06.01.05. – Bezenchuk, 1998. – 66 s.
- [10] Long D.L., Leonard K.J., Hughes M.E. Virulence of *Puccinia triticiana* on wheat in the United States from 1996 to 1998 // *Plant Disease*. – 2000. – Vol. 84. – R. 1334-1341.
- [11] Abdul S. D. Identification of the genes Lr17 and Lr26 for resistance to leaf rust (*Puccinia triticina*) in some European wheat cultivars // *Emirates Journal of Food and Agriculture*. – 2011. – Vol. 23 (4). – P. 311-319.
- [12] Mago R., Spielmeier W., Lawrence G.J., Lagudah E.S., Ellis J.G., Pryor A. Identification and mapping of molecular markers linked to rust resistance genes located on chromosome 1RS of rye using wheat-rye translocation lines // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2002. – Vol. 104 (8). – P. 1317-1324.
- [13] Singh R.P., Huerta-Espino J., Rajaram S., Crossa J. Agronomic effects from chromosome translocations 7DL.7 Ag and 1BL.1RS in spring wheat // *Crop Science*. – 1998. – Vol. 38 – P. 27 – 33.
- [14] Ehdaie B., Whitkus R.W., Waines J.G. Root biomass, water-use efficiency, and performance of wheat-rye translocations of chromosomes 1 and 2 in spring bread wheat 'Pavon' // *Crop Science* – 2003. – Vol. 43. – P. 710 – 717.
- [15] Schnurbusch T., Paillard S., Schori A., Messmer M., Schachermayr G., Winzeler M., Keller B. Dissection of quantitative and durable leaf rust resistance in Swiss winter wheat reveals a major resistance QTL in the Lr34 chromosomal region // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2004. – Vol. 108. – R. 477-484.
- [16] Bariana H.S., McIntosh R.A. Cytogenetic studies in wheat XIV. Location of rust resistance genes in VPM1 and their genetic linkage with other disease resistance genes in chromosome 2A // *Genome*. – 1993. – Vol. 36. – R. 476-482.
- [17] Maia N. Obtention des bles tendres résistants au piétin-verse par croisements interspécifiques bles × *Aegilops* // *Comptes Rendus des Seances de l'Académie d'Agriculture de France*. – 1967. – Vol. 53. – P. 149-154.
- [18] Robert O., Abelard C., Dedryver F. Identification of molecular markers for the detection of the yellow rust resistance gene Yr17 in wheat // *Molecular Breeding*. – 1999. – Vol. 5. – R.167-175.
- [19] Seah S., Spielmeier W., Jahier J., Sivasithamparan K., Lagudah E.S. Resistance gene analogs within an introgressed chromosomal segment derived from *Triticum ventricosum* that confers resistance to nematode and rust pathogens in wheat // *Molecular and Plant Microbe Interactions*. – 2000. – Vol. 13. – R. 334-341.
- [20] William H.M., Hoisington D., Singh R.P., Gonzalez de Leon D. Detection of quantitative trait loci associated with leaf rust resistance in bread wheat // *Genome*. – 1997. – Vol. 40. – R.253-260.
- [21] William H.M., Singh R.P., Huerta-Espino J., Rosewarne G., Buck H.T., Nisi J.E., Salomon N. Characterization of genes for durable resistance to leaf rust and yellow rust in CIMMYT spring wheats // *Developments in Plant Breeding*. «Wheat production in stressed environments». – Dordrecht. The Netherlands, 2007. – Vol. 12. – R.65-70.
- [22] Herrera-Foessel S.A., Singh R.P., Huerta-Espino J., Lagudah E.S. Characterization and mapping of a gene component for durable leaf rust resistance in chromosome arm 7BL // *Phytopathology*. – 2009. – Vol. 99. – P. 53-55.
- [23] Guljaev G.V., Guzhov Ju.L. Selekcija i semenovodstvo polevyh kul'tur – Moskva: Agropromizdat, 1987. – 444 s.
- [24] Riede, C.R., and Anderson, J.A. Linkage of RFLP markers to an aluminum tolerance gene in wheat // *Crop Sci.* – 1996. – Vol. 36. – P.905-909. Doi:10.2135/cropsci1996.0011183X0036000400015x.
- [25] Kalmykov M.V., Belousova R.V. Osnovy polimeraznoj cepnoj reakcii s raznymi formatami detekcii: uchebnoe posobie / pod red. M.S. Kalmykova – SPb.: Lan', 2009. – 31 s.
- [26] Dolmatovich T.V., Bulojchik A.A. Markirovanie genov ustojchivosti Lr26, Sr31, Sr50 i Pm8/Pm17 u mjagkoj ozimoj pshenicy // *Bioinzhenerija. Transgennye tehnologii*. – Minsk: BGU. – 2013. – R.227.
- [27] Rsaliev A.S. Zhazdyk katty bidaj (*Triticum durum* Desf) sort-linijalarynyň tat auralaryna tozimdiligi. // *Auyl sharuashylyry rylymdarynyň kandidaty drezhesin alu yshin dajyndalran dissertacijanyň avtoreferaty*. 06.01.05 Selekcija zhəne tykym sharuashylyry, Kazakstan. – 2009. – S. 25
- [28] Kerber E.R., Dyke P.L. Transfer to hexaploid wheat of linked genes for adult-plant leaf rust and seedling stem rust resistance from amphiploid of *Aegilops speltoides* × *Triticum monococcum* // *Genome*. – 1990. – Vol. 33. – R.530-537.
- [29] Gold J., Harder D., Townley-Smith F., Aung T., Procnier J. Development of a molecular marker for rust resistance genes Sr39 and Lr35 in wheat breeding lines // *Electronic Journal of Biotechnology*. – 1999. – Vol. 2, №1.
- [30] Lagudah E.S., Krattinger S.G., Herrera-Foessel S., Singh R.P., Huerta-Espino J., Spielmeier W., Brown-Guedira G., Selter L.L., Keller B. Gene-specific markers for the wheat gene Lr34/Yr18/Pm38 which confers resistance to multiple fungal pathogens // *Theor Appl Genet*. – 2009. – Vol. 119 – P.889-898.

А. К. Маденова, А. М. Кохметова, Қ. Галымбек, М. Н. Атишова

Институт биологии и биотехнологии растений, Алматы, Казахстан

ИДЕНТИФИКАЦИЯ НОСИТЕЛЕЙ Lr-ГЕНОВ В ПЕРСПЕКТИВНЫХ ЛИНИЙ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

Аннотация. ДНК-маркеры обладают огромным потенциалом для повышения эффективности и точности традиционной селекции растений с помощью селекции с помощью маркеров (MAS). У перспективных линий озимой пшеницы идентифицировано носителей генов устойчивости (*Lr68, Lr19/Sr25, Lr26/Sr31/Yr9/Pm8* және *Lr37/Sr38/Yr17*) к бурой ржавчине. Результате молекулярного скрининга изученных генотипов выявлено из контрольного питомника КП 7 линий (Алмалы х Обрий, НАЗ х Обрий, НАЗ х ГФ55, 428 х Уманка, 428 х Уманка, BWKLDN-9 х FAW3750, №1137) и 2 линий из питомника КСИ с геном Lr68. Носители комплекс гена *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8* был найден в двух генотипах: BWKLDN-9 х FAW3750, 428g х МК-122. Выявленные генотипы пшеницы показали высокую продуктивность и устойчивость к бурой ржавчине. Эти носители Lr-генов могут быть использованы в селекционных программах для формирования устойчивых сортов пшеницы к бурой ржавчине.

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

Авторлар жайлы мәліметтер:

Маденова А.К. – Phd доктор, Өсімдіктер биологиясы және биотехнологиясы институтының генетика және селекция лабораториясының ғылыми қызметкері, Алматы, Madenova.a@mail.ru

Кохметова Алма Мырзабековна – б.ғ.д., профессор, Өсімдіктер биологиясы және биотехнологиясы институтының генетика және селекция лабораториясының меңгерушісі, Алматы, gen_kalma@mail.ru

Галымбек Қанат – 6D081100 - Өсімдік қорғау және карантин мамандығының 3 курс докторанты, Алматы, Kanat.galymbek@mail.ru

Атишова М.Н. – биология ғылымының магистрі, Өсімдіктер биологиясы және биотехнологиясы институтының генетика және селекция лабораториясының ғылыми қызметкері, Алматы, Maki_87@mail.ru