ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ К БУРОЙ РЖАВЧИНЕ В ПЕРСПЕКТИВНЫХ ЛИНИЯХ ПШЕНИЦЫ С ПОМОЩЬЮ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ

Раимбекова Б.Т.^{1*}, кандидат сельскохозяйственных наук, ассоциированный профессор
nyrasil@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6867-4018>

Байташева Г.У.¹, кандидат сельскохозяйственных наук, ассоциированный профессор
baitasheva2004@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1299-4896>

Ануарова Л.Е.¹, кандидат биологических наук
anuarova1968@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1761-2655>

Аденова Б.¹, магистр биологических наук, adenovabekzat@gmail.ru

Жумагулова Ж.Б.¹, PhD
zhangul.zhumagulova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3589-8001>

Сақытжан Г.Ш.², докторант 2-курса ОП 8D01513-Подготовка преподавателей биологии
s.g.sh_1204@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0000-0241-1354>

¹Казахский национальный женский педагогический университет, г.Алматы, Казахстан
²Казахский национальный педагогический университет имени Абая, г.Алматы, Казахстан

Аннотация. Бурая ржавчина, вызываемая *Puccinia triticina* Eriks., является распространенным и широко распространенным заболеванием пшеницы (*Triticum aestivum* L.) в Казахстане. Устойчивость хозяина является наиболее экономичным, эффективным и экологически устойчивым методом борьбы с болезнью. Молекулярные маркеры помогают определить гены устойчивости к бурой ржавчине (гены *Lr*). Целью данного исследования было выявление генов *Lr* в двадцати перспективных линиях пшеницы из Казахстана. Проведена оценка 20 перспективных линий пшеницы на устойчивость к бурой ржавчине на стадиях проростков и взрослых растений. Для анализа использовались показатели NDVI, площадь под кривой развития болезни (AUDPC), тип реакции растений и наличие генов устойчивости *Lr* (*Lr19*, *Lr24*, *Lr26*, *Lr37*). Результаты показали, что линии с генами *Lr24* и *Lr37* демонстрируют высокую устойчивость с низкими значениями AUDPC и типом реакции MR на обеих стадиях. Линии с генами *Lr19* и *Lr26* проявили переменную устойчивость, что указывает на влияние дополнительных факторов. Некоторые линии без выявленных генов *Lr* также показали хорошую устойчивость, что свидетельствует о наличии новых источников резистентности. Полученные данные подчеркивают важность комплексного фенотипического и генетического анализа для эффективного отбора устойчивых к бурой ржавчине сортов пшеницы и формирования устойчивого генофонда.

Ключевые слова: пшеница, бурая ржавчина, гены устойчивости, молекулярный скрининг, устойчивость, NDVI, AUDPC.

Введение. Ржавчина – наиболее разрушительное грибковое заболевание, представляющее угрозу для производства пшеницы во всем мире. Листовая ржавчина, вызываемая *Puccinia triticina* Eriks., является основным заболеванием в большинстве районов выращивания пшеницы [1]. Основным фактором, способствующим снижению урожайности пшеницы в Казахстане, является распространение болезней, передающихся воздушно-капельным путем, в частности, ржавчины и пятнистости листьев, которые поражают урожай пшеницы. В Казахстане бурая ржавчина является наиболее распространенным и важным заболеванием пшеницы. Она вызвала серьезные потери урожая зерна, которые достигли до 15-20%, а потери в эпидемические годы достигли 50% [2-5]. Наиболее экологически безопасным и недорогим методом борьбы с листовой ржавчиной является селекция и выращивание устойчивых сортов пшеницы. На сегодняшний день более 80 генов устойчивости к листовой ржавчине, то есть генов *Lr*, были идентифицированы и локализованы на хромосомах пшеницы [6]. Гены устойчивости

экспрессируются на стадии проростков (гены качественной устойчивости), а не на стадии взрослого растения (гены количественной устойчивости). Некоторые гены устойчивости взрослых растений, такие как *Lr34* и *Lr46*, очень важны для селекции, поскольку они, как было доказано, обеспечивают длительную устойчивость в течение длительного периода времени в различных средах, а также против различных патотипов грибка [7].

Эффективность генов устойчивости зависит от состава популяций патогенов. Поскольку это динамически меняется, новые патотипы, вирулентные к данным генам устойчивости, время от времени размножаются, поэтому устойчивость сорта не является постоянным признаком. Сорт, несущий один ген устойчивости, становится восприимчивым в течение короткого времени. Постулирование генов устойчивости традиционно осуществляется с использованием изолятов ржавчины с известной вирулентностью [8], но эта процедура чрезвычайно затратна по времени, пространству и трудозатратам и не может быть использована, если нет других грибковых изолятов. Во многих случаях гены устойчивости можно идентифицировать только с помощью молекулярных маркеров [9]. За последние 15 лет было описано много эффективных маркеров для генов устойчивости к листовой ржавчине. Молекулярные маркеры, наиболее тесно связанные с генами *Lr*, основаны на методе ПЦР, поскольку большинство из них можно относительно легко применять в программах селекции пшеницы.

Молекулярные маркеры используются для двух целей в селекции устойчивости: (1) для мониторинга включения обозначенных генов устойчивости или QTL в элитные генотипы пшеницы (т. е. MAS, селекция с помощью маркеров) и (2) для идентификации генов устойчивости в сортах и линиях, где генетический фон неизвестен (т. е. обнаружение генов). Большой объем информации о постулируемых генах устойчивости к листовой ржавчине был собран из стран (включая Австралию, Канаду, Китай, Индию, Пакистан, Южную Африку и США), где пшеница является основной культурой [10–14]. Целью данного исследования является идентификация генов устойчивости к листовой ржавчине в выбранных казахстанских перспективных линиях пшеницы.

Материалы и методы исследования. В качестве материала исследований использованы двадцать перспективных линий пшеницы, возделываемых в Алматинской области. Данные образцы пшеницы были протестированы на бурую ржавчину в лабораторных исследованиях на стадии проростков и взрослых растений в полевых условиях. Выбранные изогенные линии *Thatcher NIL* были использованы в качестве контроля молекулярных генов *Lr19*, *Lr24*, *Lr26* и *Lr37*.

Исследования были проведены в течение вегетационного периода 2024 года на экспериментальной участке в Казахском научно-исследовательском институте земледелия и растениеводства (КАЗНИИЗиР), п. Алмалыбак, Алматинской области (N43°14'210" E076°41'282"). Эксперимент спланирован в виде полного рандомизированного блочного проекта с тремя повторениями. Все участки были окружены разбрасывателями шириной в один метр, засаженными высокочувствительным сортом Марокко. Размер индивидуального участка составлял 3 м² (3 м по 7 рядов на расстоянии 15 см). Были применены все рекомендуемые методы культивирования на коммерческих полях, т.е. внесение удобрений, орошение и другие методы управления.

В период проведения исследований погодные условия были благоприятными для развития бурой ржавчины (<http://weatherarchive.ru> (по состоянию на 22 апреля 2024 г.)). Количество осадков превысило норму, что привело к повышению влажности окружающей среды и способствовало эффективному заражению растений спорами *Puccinia triticina*.

Фитопатологическая оценка взрослых растений к бурой ржавчине, о типе и степени поражения были зафиксированы и оценены на листьях в конце мая и начале июня, когда деланки находились на стадии созревания и молочно-восковой спелости, соответственно. Время проведения второй оценки также было определено, когда степень поражения

ржавчиной восприимчивого контрольного сорта Марокко достигла 60-80%. Для фитопатологической оценки бурой ржавчины была использована шкала Петерсона (рисунок 1) [15]. Оценка симптомов бурой ржавчины проведена в соответствии с методом, разработанным в СИММУТ, по 5-ти инфекционным типам (ИТ): 0 – иммунные (отсутствие урединии или других макроскопических признаков инфекции); R – устойчивые (миниатюрные урединии и пятна хлороза, занимающие до 5-10% листа); MR – умеренно устойчивые (небольшие урединии и хлоротичные зоны занимают не более 10-25% поверхности листа); MS – умеренно восприимчивые (мелкие пустулы занимают до 40-50% поверхности листа); и S – восприимчивые (крупные пустулы занимают от 50 до 100% поверхности листа). Когда участки находились в фазе созревания и молочно-восковой спелости, в конце мая и начале июня, соответственно, были собраны данные о типе инфекции и степени тяжести. Степень поражения листовой ржавчиной регистрировали с использованием трех повторений и рассчитывали среднее значение для полученных данных.

Рисунок 1 – Шкала Петерсона для определения степени поражения листьев бурой ржавчиной

Стадия проростков. Линии пшеницы, которые должны были тестироваться, были высажены в квадратные пластиковые горшки размером 7 см. В каждый горшок было высажено по 3 линии по 10–15 семян на сорт в каждом углу горшка. Растения выращивались в теплице без ржавчины до инокуляции. Через 7 дней после посадки, когда первые листья полностью раскрылись, рассаду осторожно растирали между влажными пальцами, а затем опрыскивали водопроводной водой с помощью распылителя в климатической камере, затем инокулировали, опрыскивая их суспензией уредоспор *Puccinia triticina* Eriks в легком носителе на основе минерального масла. Концентрация инокулята была нормализована до 2–3 мг/мл [16]. Маслу давали испариться из листьев в течение 30–60 минут, а рассаду помещали на ночь в камеру с росой при 17 °С. Затем их переносили в теплицу со средней температурой около 20–21 °С. Через 14 дней после инокуляции образцы оценивались по типу инфекции (ТИ) по шкале [17], где 0: иммунный тип; 1: очень устойчивый; 2: умеренно устойчивый; 3: умеренно восприимчивый; и 4: высоко-восприимчивый тип реакции.

Методы молекулярного скрининга Lr генов устойчивости пшеницы к бурой ржавчине. Экстракция геномной ДНК произведена по методике, предложенной Riede et al., 1996. ДНК выделяли из 5-дневных проростков пшеницы для каждого отдельного образца на основе СТАВ метода [18]. Определение концентрации ДНК проведено спектрофотометрическим методом, который основан на измерении поглощения ультрафиолетового света при длине волны 260 нм, где ДНК имеет максимум поглощения.

По закону Бугера-Ламберта-Бера оптическая плотность (OD) напрямую связана с концентрацией ДНК. Концентрация ДНК в рабочем растворе для ПЦР доведена до 20 нг/мкл. Реакционная смесь для ПЦР (25 µl) содержала 2,5 мкл геномной ДНК, по 1 мкл каждого праймера (1 pM/ µl) (SigmaAldrich, США), 2,5 µl смеси dNTP (2,5 mM, dCTP, dGTP, dTTP и dATP) (ЗАО «Силекс», Россия), 2,5 мкл MgCl₂ (25 mM), 0,2 µl Taq-полимеразы (5 ед. в µl) (ЗАО «Силекс», Россия), 2,5 µl 10X буфера для ПЦР и 12,8 мкл ddH₂O. ПЦР-амплификацию проводили на амплификаторе Mastercycler (Eppendorf, Германия).

Продукты амплификации разделяли в 2% агарозном геле в буфере TBE (45 mM Трис-борат, 1 mM ЭДТА, pH 8) с добавлением бромистого этидия. Для определения длины фрагмента амплификации использовали 100-bp ДНК – маркер (Fermentas, Литва). Результаты визуализировали с помощью системы документации гелей (Gel Doc XR+, BIO-RAD, Hercules, США). В таблице 1 представлены молекулярные маркеры, используемые для идентификации генов *Lr*.

Таблица 1 – Молекулярные маркеры, используемые для идентификации генов *Lr*

<i>Lr</i> гены	Код праймера	Последовательность праймеров (5'-3')	Условия цикла	Размер амплифицированного фрагмента маркера (п.н.)
<i>Lr19</i>	19F 19R	5' CATCCTTGGGGACCTC 3' CCAGCTCGCATACATCCA	94°C 4 min., 40 cycles (92°C 1 min., 60°C 1 min., 72°C 2 min.), 72°C 5 min.	191 [19]
<i>Lr24</i>	24F 24R	5' TCTAGTCTGTACATGGGGGC 3' TGGCACATGAACTCCATACG	94°C 5 min., 30 cycles (94°C 1.5 min., 55°C 2 min., 72°C 1.5 min.), 72°C 5 min.	310 [20]
<i>Lr26</i>	26F 26R	5' CATCCTTGGGGACCTC 3' CCAGCTCGCATACATCCA	94°C 2 min., 35 cycles (94°C 30 s., 63°C 2 min., 72°C 1.5 min.), 72°C 5 min.	1100 [21]
<i>Lr37</i>	37F 37R	5' AGGGGCTACTGACCAAGGCT 3' TGCAGCTACAGCAGTATGTACA CAAAA	94°C 10 min., 40 cycles (94°C 1 min., 55°C 1 min., 72°C 1 min.), 72°C 10 min.	285 [22]

Определение индекса биомассы растений (NDVI – Normalized Difference Vegetative Index) осуществляли с использованием портативного прибора Green Seeker (Trimble Navigation Limited, USA). Индекс NDVI варьирует в пределах от 0.00 до 1.0; чем выше показатель, тем выше устойчивость к болезням. Исследования показали, что индекс NDVI непосредственно связан с фотосинтетической способностью и, следовательно, с поглощением энергии растительного покрова [23]. Чем выше значение индекса, тем выше продуктивность и устойчивость к болезням, и тем ниже потребность в азотном питании.

Результаты и обсуждение. По результатам статистической обработки ANOVA выявили весьма значимую вариацию ($p < 0,001$) для генотипов пшеницы, в то время как эффект устойчивости к болезни оказался значимым ($p < 0,001$). Среди образцов выявлен высокий уровень наследуемости (h^2) устойчивости как на стадии взрослого растения, так и на стадии проростков (таблица 2).

Образцы ДНК выделенные из 3х дневных проростков пшеницы были проанализированы по концентрации и показателям чистоты (A260/A280 и A260/A230). Коэффициент A260/A280 важен для оценки чистоты ДНК, потому что он позволяет

определить наличие примесей белков и фенола в образце.

Таблица 2 – Дисперсионный анализ влияния генотипа растения на устойчивость пшеницы к бурой ржавчине

Factor	Sum of sqrs	df	Mean square	F	h _b ² , %
Генотип	158.15	19	8.3	5.91***	0,82
Устойчивость к болезни	14.81	1	4.42	11.63***	
Остаточное	19,58	19	0.56		

ДНК поглощает ультрафиолетовый свет с максимумом при 260 нм, а белки — при 280 нм. Чистая ДНК должна иметь отношение A260/A280 в диапазоне 1,8–2,0; если значение ниже 1,8, это свидетельствует о присутствии белков или фенола, которые могут мешать последующим молекулярно-биологическим экспериментам, снижая эффективность ферментативных реакций и искажая результаты анализа

Изученные образцы имеют концентрацию выше 200 нг/мкл, что значительно превышает минимальный порог надежности измерений (50 нг/мкл). Наиболее высокая концентрация зафиксирована в образцах Line_3_2024 (624.5 нг/мкл) и Line_9_2024 (625.5 нг/мкл). Все образцы содержали ДНК в достаточной концентрации для проведения молекулярного скрининга. Результаты проверки на наличие и концентрации ДНК изученных перспективных линий пшеницы представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Результаты проверки на наличие и концентрации ДНК изученных перспективных линий пшеницы

№	Название образцов	ng/ μ	A260/A280	A280/A230	ДНК
1	Line 1 2024	223,5	1,98	1,92	+
2	Line 2 2024	329,5	1,99	2,01	+
3	Line 3 2024	624,5	2,12	2,10	+
4	Line 4 2024	419,6	2,06	1,95	+
5	Line 5 2024	303,6	1,99	2,04	+
6	Line 6 2024	238,5	2,04	1,79	+
7	Line 7 2024	320,7	1,99	2,04	+
8	Line 8 2024	404,5	2,03	1,98	+
9	Line 9 2024	625,5	1,99	1,88	+
10	Line 10 2024	204,8	2,08	1,99	+
11	Line 11 2024	399,0	2,09	2,06	+
12	Line 12 2024	462,7	2,03	2,06	+
13	Line 13 2024	500,8	2,04	2,07	+
14	Line 14 2024	344,3	1,93	1,93	+
15	Line 15 2024	238,7	2,04	1,98	+
16	Line 16 2024	540,1	2,01	2,00	+
17	Line 17 2024	342,7	2,08	2,08	+
18	Line 18 2024	344,2	2,05	2,05	+
19	Line 19 2024	423,6	1,75	1,61	+
20	Line 20 2024	363,6	2,04	1,89	+
21	Алмалы ст. сорт	564,5	2,65	1,98	+
22	Морокко – восприимчивый контроль	442,5	1,52	1,87	+

В рамках исследования проведено изучение 20 перспективных линий пшеницы на устойчивость к бурой ржавчине (*Puccinia triticina*) на двух стадиях развития — проростков

и взрослых растений. Основной целью исследования было выявление линий с высокой устойчивостью и определение влияния генов устойчивости *Lr* на проявление болезни. В качестве дополнительных параметров оценивались индекс вегетационной активности (NDVI) и площадь под кривой развития болезни (AUDPC). Результаты исследований по молекулярному скринингу и фитопатологической оценке представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Перспективные линии пшеницы, испытанные на стадиях проростков и взрослых растений на устойчивость к бурой ржавчине

Название образцов	NDVI	Устойчивость к бурой ржавчине		AUDPC	Наличие <i>Lr</i> генов
		Проростковая оценка	Возрастная оценка		
Line 1 2024	75	1,2	10MR	20	<i>Lr24, Lr37</i>
Line 2 2024	80	1,5	15MS	35	<i>Lr19</i>
Line 3 2024	69	2,0	50S	110	<i>Lr19</i>
Line 4 2024	73	1,1	10MR	20	
Line 5 2024	78	1,4	5MR	7,5	<i>Lr24</i>
Line 6 2024	70	1,3	10MR	25	
Line 7 2024	85	1,1	10MR	20	<i>Lr37</i>
Line 8 2024	72	0	5MR	7,5	<i>Lr19, Lr37</i>
Line 9 2024	75	1,5	40S	105	
Line 10 2024	80	1,2	30MS	60	<i>Lr26</i>
Line 11 2024	65	2,3	30MS	60	
Line 12 2024	80	2,4	50S	110	
Line 13 2024	76	1,5	15MR	25	<i>Lr19</i>
Line 14 2024	72	1,3	10MR	20	
Line 15 2024	82	1,2	10MR	20	<i>Lr24</i>
Line 16 2024	75	0	5MR	15	
Line 17 2024	71	1,2	10MR	20	
Line 18 2024	69	1,2	10MR	20	<i>Lr37</i>
Line 19 2024	84	2,5	60S	130	<i>Lr26</i>
Line 20 2024	80	1,5	10MR	20	
Алматы ст. сорт	82	2,5	10MR	30	-
Морокко – восприимчивый контроль	68	3,0	60S	140	-

Значения индексу биомассы растений NDVI колеблются от 65 до 85, где более высокие показатели (Line_7_2024 — 85, Line_19_2024 — 84) отражают лучшее состояние растений. Однако высокий NDVI не всегда коррелирует с устойчивостью к бурой ржавчине (Line_19_2024 с NDVI 84 проявляет высокую восприимчивость). Большинство линий показывают низкие значения AUDPC (от 0 до 2.5), что свидетельствует о хорошей начальной устойчивости. Линии с нулевым AUDPC (Line_8_2024, Line_16_2024) демонстрируют полную устойчивость и развитие прогрессирования болезни составляет 0.

По результатам фитопатологического скрининга тип реакции варьирует от умеренно устойчивого (MR) до восприимчивого (S). Линии с типом реакции MR и низким AUDPC к ним относятся перспективные линии Line_5_2024, Line_8_2024, Line_15_2024, которые обладают высокой устойчивостью.

Перспективные линии с реакцией S и высоким AUDPC (Line_3_2024, Line_12_2024, Line_19_2024) отнесены к восприимчивым образцам. На рисунке 2 представлена гистограмма распределения перспективных линий по проростковой и возрастной устойчивости к бурой ржавчине пшеницы.

Рисунок 2 – Гистограмма распределения перспективных линий по проростковой (А) и возрастной (Б) устойчивости к бурой ржавчине пшеницы

По результатам молекулярного скрининга у 11 перспективных линий (55.0%) идентифицированы *Lr* гены. В двух перспективных линиях идентифицировано по два *Lr* гена: Line_1_2024 (*Lr24*, *Lr37*) и Line_8_2024 (*Lr19*, *Lr37*). Перспективные линии, содержащие гены *Lr24* и *Lr37* (Line_1_2024, Line_7_2024, Line_15_2024), демонстрируют высокую устойчивость на всех стадиях. Наличие *Lr19* дали смешанные результаты: Line_3_2024 восприимчив, Line_8_2024 и Line_13_2024 — умеренно устойчивы, что может говорить о взаимодействии с другими генами или факторами среды.

Перспективная линия с геном *Lr26* (Line_10_2024) проявляет умеренную восприимчивость, что соответствует известной частичной эффективности этого гена. Перспективные линии без выявленных *Lr*-генов (например, Line_4_2024, Line_6_2024) также показывают хорошую устойчивость, что может указывать на наличие других генетических факторов устойчивости. По результатам комплексного изучения идентифицированные линии Line_1_2024, Line_5_2024, Line_7_2024, Line_8_2024, Line_15_2024 — обладают низкими значениями AUDPC и типом реакции MR, содержат эффективные гены *Lr* или обладают другими механизмами устойчивости. По результатам молекулярного скрининга гены *Lr24* и *Lr37* оказывают значительное положительное влияние на устойчивость. Наличие *Lr19* и *Lr26* требует дополнительного изучения в контексте взаимодействия с другими генами и условиями выращивания.

Выводы. Данное исследование подтверждает важность комплексного подхода к оценке устойчивости пшеницы к бурой ржавчине, учитывающего как фенотипические показатели, так и генетический фон. Полученные данные позволяют выделить перспективные линии для дальнейшего использования в селекции и обеспечивают основу для повышения устойчивости посевов пшеницы к опасному заболеванию пшеницы. Таким образом, данные подтверждают важность комплексного подхода к оценке устойчивости к бурой ржавчине, учитывающего фенотипические показатели (NDVI, тип реакции, AUDPC) и генетический фон (наличие *Lr*-генов) для эффективного отбора перспективных линий пшеницы.

Благодарность. Авторы хотели бы выразить благодарность Институту естественных наук, кафедре биологии Казахского национального женского педагогического университета.

Литература:

- [1] **Park, R.F.**, Wellings C.R., Bariana H.S. Preface to ‘global landscapes in cereal rust control // *Australian Journal of Agricultural Research*. – 2007. – Vol. 58(6). – P. 469.
- [2] **Koyshibaev, M.K.** Diseases of Wheat // FAO: Ankara, Turkey. – 2018. – P. 365.
- [3] **Кохметова, А.М.**, Кеишилов Ж.С., Ғалымбек Қ., Кумарбаева М.Т. Қазақстанда өсірілетін бидай сорттарының пиренофороз *Pyrenophora tritici-repentis* ауруына төзімділігіне фитопатологиялық скрининг жүргізу // *Ізденістер, нәтижелер – Исследования, результаты*. – 2019. № 2 (82). – С.213-218.
- [4] **Keishilov, Z.**, Kokhmetova A., Kumarbaeva M., Bolatbekova A., Malysheva A., Kokhmetova A. Monitoring of leaf rust (*Puccinia recondita*) of spring wheat in Northern Kazakhstan 2019–2022 // *Herald Sci. KazATU*. – 2022. – №1. – P. 930.
- [5] **Galymbek, K.**, Kokhmetova A.M., Akan K., Madenova A.K., Atishova M.N. Identification of germplasm of Wheat on leaf rust (*Puccinia recondita* Rob. Ex Desm. F.sp. Tritici) // *Ecol. Environ. Conserv.* – 2017. – Vol. 23. – P. 1211–1218.
- [6] **Samsampour, D.**, Zanjani B.M., J. K. Pallavi. Identification of molecular markers linked to adult plant leaf rust resistance gene *Lr48* in wheat and detection of *Lr48* in the Thatcher near-isogenic line with gene *Lr25* // *Euphytica*. – 2010. – Vol. 174(3). – P. 337–342.
- [7] **Schnurbusch, T.**, Bossolini E., Messmer M., Keller B. Tagging and validation of a major quantitative trait locus for leaf rust resistance and leaf tip necrosis in winter wheat cultivar Forno // *Phytopathology*. – 2004. – Vol. 94(10). – P. 1036–1041.
- [8] **Bakkeren, G.**, Szabo L.J. Progress on Molecular Genetics and Manipulation of Rust Fungi // *Phytopathol.* – 2022. – Vol. 110. – P. 532-543. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-19-0228-IA>
- [9] **Ijaz, M.**, Afzal A., Shabbir G., Iqbal J., Rafique M. Breeding wheat for leaf rust resistance: past, present and future // *Asian J. Agric. Biol.* – 2023(1): 2021426
- [10] **Kumar, K.**, Jan I., Saripalli G., Sharma P.K., Mir R.R., Balyan H.S., Gupta P.K. An Update on Resistance Genes and Their Use in the Development of Leaf Rust Resistant Cultivars in Wheat // *Front. Genet.* – 2022. – Vol. 13: 816057. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.816057>
- [11] **Liu, Y.**, Gebrewahid T.W., Zhang P., Li Z., Liu D. Identification of leaf rust resistance genes in common wheat cultivars from China and foreign countries // *J. Integr. Agric.* – 2021. – Vol. 20:5. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(20\)63371-8](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(20)63371-8)
- [12] **Olivera, P.D.**, Szabo L.J., Kokhmetova A., Morgounov A., Luster D.G., Jin Y. *Puccinia graminis f. sp. tritici* Population Causing Recent Wheat Stem Rust Epidemics in Kazakhstan Is Highly Diverse and Includes Novel Virulence Pathotypes // *Phytopathol.* – 2022. – Vol. 112(11). – P. 2403-2415. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-08-21-0320-R>
- [13] **Talebi, R.**, Mahboubi M., Naji A.M., Mehrabi R. Physiological specialization of *Puccinia triticina* and genome-wide association mapping provide insights into the genetics of wheat leaf rust resistance in Iran // *Sci. Reports*. – 2023. – Vol. 13:4398. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-31559-y>
- [14] **Xue, S.**, Kolmer J.A., Wang S., Yan L. Mapping of Leaf Rust Resistance Genes and Molecular Characterization of the 2NS/2AS Translocation in the Wheat Cultivar Jagger // *G3*. – 2018. – Vol. 8(6). – P. 2059–2065. <https://doi.org/10.1534/g3.118.200058>
- [15] **Peterson, R.F.**, Campbell A.B., Hannah A.E. Adigrammatic scale for estimating rust intensity of leaves and stem of cereals. *Can. J. Res. Sect.* – 1948. – Vol. C26. – P. 496-500.
- [16] USDA. World Agricultural Production. Circular Series WAP 9–20. Spetember 2020; United States Department of Agriculture (USDA) Foreign Agricultural Service, Gobar Market Analysis: Washington, DC, USA, 2020.
- [17] **Kolmer, J.A.** Tracking wheat rust on a continental scale // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 2005. – Vol. 8. – P. 441–449.
- [18] **Riede, C.R.**, Anderson J.A. Linkage of RFLP markers to an aluminum tolerance gene in wheat. *Crop Science*. – 1996. – Vol. 36. – P. 905-909.
- [19] **Zhang, W.** Association between allelic variation at the Phytoene synthase 1 gene and yellow pigment content in the wheat grain Zhang W., Dubcovsky J. Association between allelic variation at the Phytoene synthase 1 gene and yellow pigment content in the wheat grain. *Theor. Appl. Genet.* – 2008. – Vol.116. – P. 635–645.
- [20] **Schachermayr, G.M.**, Messmer M.M., Feuillet C., Winzeler H., Winzeler M., Keller B.

Identification of molecular markers linked to the Agropyron elongatum-derived leaf rust resistance gene *Lr24* in wheat // *Theor. Appl. Genet.* – 1995. – Vol. 90. – P. 982- 990.

[21] **Mago, R.**, Miah H., Lawrence G.J., Wellings C.R., Spielmeyer W., Bariana, H.S., Ellis J.G. High-resolution mapping and mutation analysis separate the rust resistance genes *Sr31*, *Lr26*, and *Yr9* on the short arm of rye chromosome 1 // *Theor. Appl. Genet.* – 2005. – Vol.112. – P.41–50.

[22] **Helguera, M.**, Khan I., Kolmer,J., Lijavetzky D., Zhong-Qi L., Dubcovsky J. PCR Assays for the Cluster of Rust Resistance Genes and Their Use to Develop Isogenic Hard Red Spring Wheat Lines // *Crop Sci.* – 2003. – Vol. 43. – P. 1839–1847.

[23] **Chu, Ch.D.**, Lu L., Zhang T. Sensitivity of Normalized Difference Vegetation Index (NDVI) to seasonal and Interannual climate conditions in the Lhasa area // *Arctic, Antarctic, and Alpine Research.* – 2007. – Vol. 79, №4 (39). – P. 635-641.

References:

[1] **Park, R.F.**, Wellings C.R., Bariana H.S. Preface to ‘global landscapes in cereal rust control // *Australian Journal of Agricultural Research.* – 2007. – Vol. 58(6). – P. 469.

[2] **Koyshibaev, M.K.** Diseases of Wheat // *FAO: Ankara, Turkey.* – 2018. – P. 365.

[3] **Kohmetova, A.M.**, Keishilov Zh.S., Galymbek Q., Kumarbaeva M.T. Qazaqstanda osiriletin bidaj sorttarynyn pirenoforoz *Pyrenophora tritici-repentis* auruyuna tozimdiligine fitopatologiyalyq skringing zhyrgizu // *Izdenister, natizheler – Issledovaniya, rezul'taty.* – 2019. № 2 (82). – S.213-218. [in Kazakh]

[4] **Keishilov, Z.**, Kokhmetova A., Kumarbaeva M., Bolatbekova A., Malysheva A., Kokhmetova A. Monitoring of leaf rust (*Puccinia recondita*) of spring wheat in Northern Kazakhstan 2019–2022 // *Herald Sci. KazATU.* – 2022. – №1. – R. 930.

[5] **Galymbek, K.**, Kokhmetova A.M., Akan K., Madenova A.K., Atishova M.N. Identification of germplasm of Wheat on leaf rust (*Puccinia recondita* Rob. Ex Desm. F.sp. *Tritici*) // *Ecol. Environ. Conserv.* – 2017. – Vol. 23. – P. 1211–1218.

[6] **Samsampour, D.**, Zanjani B.M., J. K. Pallavi. Identification of molecular markers linked to adult plant leaf rust resistance gene *Lr48* in wheat and detection of *Lr48* in the Thatcher near- isogenic line with gene *Lr25* // *Euphytica.* – 2010. – Vol. 174(3). – P. 337– 342.

[7] **Schnurbusch, T.**, Bossolini E., Messmer M., Keller B. Tagging and validation of a major quantitative trait locus for leaf rust resistance and leaf tip necrosis in winter wheat cultivar Forno // *Phytopathology.* – 2004. – Vol. 94(10). – P. 1036–1041.

[8] **Bakkeren, G.**, Szabo L.J. Progress on Molecular Genetics and Manipulation of Rust Fungi // *Phytopathol.* – 2022. – Vol. 110. – P. 532-543. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-19-0228-IA>

[9] **Ijaz, M.**, Afzal A., Shabbir G., Iqbal J., Rafique M. Breeding wheat for leaf rust resistance: past, present and future // *Asian J. Agric. Biol.* – 2023(1): 2021426

[10] **Kumar, K.**, Jan I., Saripalli G., Sharma P.K., Mir R.R., Balyan H.S., Gupta P.K. An Update on Resistance Genes and Their Use in the Development of Leaf Rust Resistant Cultivars in Wheat // *Front. Genet.* – 2022. – Vol. 13: 816057. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.816057>

[11] **Liu Y.**, Gebrewahid T.W., Zhang P., Li Z., Liu D. Identification of leaf rust resistance genes in common wheat cultivars from China and foreign countries // *J. Integr. Agric.* – 2021. – Vol. 20:5. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(20\)63371-8](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(20)63371-8)

[12] **Olivera, P.D.**, Szabo L.J., Kokhmetova A., Morgounov A., Luster D.G., Jin Y. *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* Population Causing Recent Wheat Stem Rust Epidemics in Kazakhstan Is Highly Diverse and Includes Novel Virulence Pathotypes // *Phytopathol.* – 2022. – Vol. 112(11). – P. 2403-2415. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-08-21-0320-R>

[13] **Talebi, R.**, Mahboubi M., Naji A.M., Mehrabi R. Physiological specialization of *Puccinia triticina* and genome-wide association mapping provide insights into the genetics of wheat leaf rust resistance in Iran // *Sci. Reports.* – 2023. – Vol. 13:4398. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-31559-y>

[14] **Xue, S.**, Kolmer J.A., Wang S., Yan L. Mapping of Leaf Rust Resistance Genes and Molecular Characterization of the 2NS/2AS Translocation in the Wheat Cultivar Jagger // *G3.* – 2018. – Vol. 8(6). – P. 2059– 2065. <https://doi.org/10.1534/g3.118.200058>

[15] **Peterson, R.F.**, Campbell A.B., Hannah A.E. Adigrammatic scale for estimating rust intensity of leaves and stem of cereals. *Can. J. Res. Sect.* – 1948. – Vol. C26. – P. 496-500.

[16] USDA. World Agricultural Production. Circular Series WAP 9–20. Spetember 2020; United

States Department of Agriculture (USDA) Foreign Agricultural Service, Global Market Analysis: Washington, DC, USA, 2020.

[17] **Kolmer, J.A.** Tracking wheat rust on a continental scale // *Curr. Opin. Plant Biol.* –2005. – Vol. 8. – P. 441–449.

[18] **Riede, C.R.**, Anderson J.A. Linkage of RFLP markers to an aluminum tolerance gene in wheat. *Crop Science.* – 1996. – Vol. 36. – P. 905-909.

[19] **Zhang, W.** Association between allelic variation at the Phytoene synthase 1 gene and yellow pigment content in the wheat grain Zhang W., Dubcovsky J. Association between allelic variation at the Phytoene synthase 1 gene and yellow pigment content in the wheat grain. *Theor. Appl. Genet.* – 2008. – Vol.116. – P. 635–645.

[20] **Schachermayr, G.M.**, Messmer M.M., Feuillet C., Winzeler H., Winzeler M., Keller B. Identification of molecular markers linked to the Agropyron elongatum-derived leaf rust resistance gene Lr24 in wheat // *Theor. Appl. Genet.* – 1995. – Vol. 90. – P. 982- 990.

[21] **Mago, R.**, Miah H., Lawrence G.J., Wellings C.R., Spielmeier W., Bariana, H.S., Ellis J.G. High-resolution mapping and mutation analysis separate the rust resistance genes Sr31, Lr26, and Yr9 on the short arm of rye chromosome 1 // *Theor. Appl. Genet.* – 2005. – Vol.112. – P.41–50.

[22] **Helguera, M.**, Khan I., Kolmer J., Lijavetzky D., Zhong-Qi L., Dubcovsky J. PCR Assays for the Cluster of Rust Resistance Genes and Their Use to Develop Isogenic Hard Red Spring Wheat Lines // *Crop Sci.* – 2003. – Vol. 43. – P. 1839–1847.

[23] **Chu, D.**, Lu L., Zhang T. Sensitivity of Normalized Difference Vegetation Index (NDVI) to seasonal and Interannual climate conditions in the Lhasa area // *Arctic, Antarctic, and Alpine Research.* – 2007. – Vol. 79, №4 (39). – P. 635-641.

IDENTIFICATION OF GENES FOR RESISTANCE TO LEAF RUST IN PROSPECTING WHEAT LINES USING MOLECULAR MARKERS

Raimbekova B.T.^{1*}, Candidate of Agricultural Sciences, Associate Professor

Baitasheva G.U.¹, Candidate of Agricultural Sciences, Associate Professor

Anuarova L.E.¹, Candidate of Biological Sciences

Adenova B.¹, Master of Biological Sciences

Zhumagulova Zh.B.¹, PhD

Sakytzhan G.², 2nd-year doctoral student in EP 8D01513- Training of biology teachers

¹*Kazakh National Women's Teacher Training University, Almaty, Kazakhstan*

²*Kazakh National Teacher Training University named after Abay, Almaty, Kazakhstan*

Abstract. Leaf rust caused by *Puccinia triticina* Eriks. is a common and widespread disease of wheat (*Triticum aestivum* L.) in Kazakhstan. Host resistance is the most cost-effective, efficient and environmentally sustainable method of disease control. Molecular markers help to identify leaf rust resistance genes (*Lr* genes). The aim of this study was to identify *Lr* genes in twenty promising wheat lines from Kazakhstan. Twenty promising wheat lines were evaluated for leaf rust resistance at seedling and adult plant stages. NDVI, area under the disease progression curve (AUDPC), plant response type and the presence of *Lr* resistance genes (*Lr19*, *Lr24*, *Lr26*, *Lr37*) were used for the analysis. The results showed that lines with *Lr24* and *Lr37* genes exhibit high resistance with low AUDPC values and MR response type at both stages. Lines with *Lr19* and *Lr26* genes showed variable resistance, indicating the influence of additional factors. Some lines without identified *Lr* genes also showed good resistance, indicating the presence of new sources of resistance. The obtained data emphasize the importance of complex phenotypic and genetic analysis for the effective selection of leaf rust-resistant wheat varieties and the formation of a resistant gene pool.

Keywords: wheat, leaf rust, resistance genes, molecular screening, resistance, NDVI, AUDPC.

МОЛЕКУЛЯЛЫҚ МАРКЕРЛЕРДІ ҚОЛДАНУ АРҚЫЛЫ ПЕРЕКТИВТІ БИДАЙ ЛИНИЯЛАРЫНДАҒЫ ҚОҢЫР ТАТҚА ТӨЗІМДІ ГЕНДЕРДІ ИДЕНТИФИКАЦИЯЛАУ

Раимбекова Б.Т.^{1*}, ауыл шаруашылығы ғылымдарының кандидаты, қауымдастырылған профессор
Байташева Г.У.¹, ауыл шаруашылығы ғылымдарының кандидаты, қауымдастырылған профессор

Ануарова Л.Е.¹, биология ғылымдарының кандидаты

Аденова Б.¹, биология ғылымдарының магистрі

Жумагулова Ж.Б.¹, PhD

Сақытжан Г.², D01513-Биология педагогтарын даярлау БББ-ның 2-курс докторанты

¹Қазақ ұлттық қыздар педагогикалық университеті, Алматы қ., Қазақстан

²Абай атындағы ұлттық педагогикалық университеті, Алматы қ., Қазақстан

Андатпа. *Puccinia triticina* Eriks тудырған жапырақ тоты. Қазақстанда бидайдың (*Triticum aestivum* L.) кең тараған ауруы. Хостқа төзімділік – аурумен күресудің ең үнемді, тиімді және экологиялық тұрақты әдісі. Молекулалық маркерлер жапырақтың татқа төзімділік гендерін (Lr гендері) анықтауға көмектеседі. Бұл зерттеудің мақсаты Қазақстанның бидайының 20 перспективті линиясында Lr гендерін анықтау болды. Жиырма перспективалы бидай линиясы көшет және ересек өсімдік кезеңдерінде жапырақ татына төзімділігі бойынша бағаланды. Талдау үшін NDVI, аурудың даму қисығы астындағы аумақ (AUDPC), өсімдік жауап түрі және Lr төзімділік гендерінің болуы (Lr19, Lr24, Lr26, Lr37) пайдаланылды. Нәтижелер Lr24 және Lr37 гендері бар сызықтар екі кезеңде де төмен AUDPC мәндерімен және MR жауап түрімен жоғары қарсылық көрсеткенін көрсетті. Lr19 және Lr26 гендері бар сызықтар қосымша факторлардың әсерін көрсететін айнымалы төзімділікті көрсетті. Lr гендері анықталмаған кейбір сызықтар да жақсы қарсылық көрсетті, бұл қарсылықтың жаңа көздерінің болуын көрсетеді. Алынған мәліметтер бидайдың жапырақты татқа төзімді сорттарын тиімді іріктеу және төзімді генофонд қалыптастыру үшін кешенді фенотиптік және генетикалық талдаудың маңыздылығын көрсетеді.

Тірек сөздер: бидай, қоңыр тат, төзімділік гендері, молекулалық скрининг, төзімділік, NDVI, AUDPC.