

УДК 633.112.9«324»: [631.524.86:632.4]

Т. В. ДОЛМАТОВИЧ<sup>1</sup>, А. А. БУЛОЙЧИК<sup>1</sup>, В. С. БОРЗЯК<sup>1</sup>, С. И. ГРИБ<sup>2</sup>, В. Н. БУШТЕВИЧ<sup>2</sup>

**МАРКИРОВАНИЕ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ К БУРОЙ РЖАВЧИНЕ  
И ИХ ЭКСПРЕССИЯ НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ОНТОГЕНЕЗА  
У СОРТОВ И ПЕРСПЕКТИВНЫХ ОБРАЗЦОВ ОЗИМОГО ТРИТИКАЛЕ**

<sup>1</sup>Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию, Жодино, Беларусь,  
e-mail: izis@tut.by

(Поступила в редакцию 17.03.2015)

**Введение.** Тритикале – одна из основных зернофуражных культур Республики Беларусь, валовой сбор зерна которой ежегодно составляет 18–20 % [1]. Потери урожая зерна тритикале от вредных организмов могут составлять 20–30 % [2].

Использование генетически устойчивых сортов является наиболее эффективным, экономически и экологически надежным методом контроля болезней, позволяющим снизить или элиминировать применение фунгицидов и свести к минимуму потери урожая от ржавчины. Для получения высоких и стабильных урожаев тритикале требуется совершенствовать технологии возделывания, основанные на современных способах защиты культуры от болезней. Для того чтобы с большей надежностью контролировать болезнестойчивость, очень важно иметь в распоряжении молекулярно-генетические маркеры, сопряженные с этим признаком.

В настоящее время молекулярно-генетическое маркирование является одним из приоритетных направлений развития прикладной генетической науки в мире и эффективным способом повышения разрешающей способности отбора и сокращения сроков и трудозатратности селекционного процесса.

Тритикале – это пшенично-ржаной гибрид, поэтому информация о маркерах, расположенных в А и В геномах пшеницы и R геноме ржи, может быть с успехом использована для анализа генома тритикале на наличие генов устойчивости к бурой ржавчине [3]. Согласно Каталогу генных символов [4], у пшеницы идентифицировано 78 генов устойчивости к бурой ржавчине, из которых 67 присвоен соответствующий Lr-символ. К настоящему времени различные типы ДНК-маркеров разработаны более чем для 30 генов устойчивости пшеницы к бурой ржавчине [4]. Конечно, предпочтение для MAS-селекции отдается ген-специфическим маркерам, но учитывая то небольшое число клонированных генов (*Lr1*, *Lr10*, *Lr21*, *Lr34*), для потребностей селекции, в большинстве случаев, используются диагностические маркеры, сцепленные с генами устойчивости. В Каталог генных символов ржи [5] включено 9 генов устойчивости к бурой ржавчине.

Цель работы – разработать и внедрить в селекционную практику технологию маркер-сопутствующей селекции для ускоренного создания селекционно ценных форм и сортов тритикале, устойчивых к бурой ржавчине.

**Материалы и методы исследования.** Изучали 25 сортов озимого тритикале, районированных в Республике Беларусь, и 24 сортообразца конкурсного сортоиспытания РУП «Научно-практический центр по земледелию НАН Беларуси».

Лабораторную оценку устойчивости 49 сортообразцов озимого тритикале к клонам возбудителя бурой ржавчины проводили на стадии проростка. В качестве инокулюма использовали 7 патотипов возбудителя бурой ржавчины, наиболее распространенных на территории Республики Беларусь. Клоны патогена различались по вирулентности к изогенным линиям пшеницы сорта Thatcher и сортам, несущим известные гены устойчивости (табл. 1).

Работу проводили, используя модифицированную методику Михайловой и Квитко [6]. Первый лист 9-дневных проростков разрезали на отрезки длиной 2 см и размещали полосами в кюветах размером 18×24 см на среду 0,6%-ного агар-агара с добавлением 40 мг бензимидазола на 1 л воды. Отрезки проростков заражали водной суспензией уредоспор индивидуальных клонов с помощью пульверизатора. Затем кюветы вкладывали в полиэтиленовые пакеты, выдерживали сутки на рассеянном свете и помещали в камеру с регулируемым режимом (температура – 20 °С, освещенность – 6 тыс. люкс, фотопериод – 16 ч). Спустя 8 суток после инокуляции определяли тип реакции на исследуемых образцах по шкале Mains, Jackson [7]. Сортообразцы с типом реакции к болезни 0, 1, 2 считали устойчивыми, а с типом 3 и 4 – восприимчивыми. Повторность опыта – трехкратная, выборка – не менее 100 растений.

Работу по оценке полевой резистентности к бурой ржавчине селекционных посевов озимого тритикале проводили на опытном поле производственного участка «Перемежное» РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию». Каждый образец был представлен делянкой длиной 10 м<sup>2</sup> в четырех повторностях. Оценку проводили по проценту развития болезни на флаг-листе (фаза «молочно-восковая спелость») по шкале Гешеле [8].

Таблица 1. Характеристика по генам вирулентности у клонов возбудителя бурой ржавчины, использованным для лабораторной оценки устойчивости пшеницы

| Шифр<br>клона | Ген устойчивости у изогенной линии, сорта мягкой пшеницы |             |             |             |             |             |             |              |             |             |             |                  |              |             |             |
|---------------|--|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|-------------|-------------|-------------|------------------|--------------|-------------|-------------|
|               | <i>Lr1</i>   | <i>Lr2a</i> | <i>Lr2b</i> | <i>Lr2c</i> | <i>Lr3a</i> | <i>Lr3b</i> | <i>Lr15</i> | <i>Lr17b</i> | <i>Lr19</i> | <i>Lr24</i> | <i>Lr26</i> | <i>Lr31+Lr27</i> | <i>LrEch</i> | <i>Lr39</i> | <i>Lr42</i> |
| 1             | –  | –           | –           | –           | +           | +           | +           | +            | –           | +           | +           | +                | +            | +           | –           |
| 2             | +  | +           | +           | +           | +           | +           | +           | +            | –           | –           | +           | +                | +            | –           | –           |
| 5             | –  | –           | +           | +           | +           | +           | –           | +            | –           | +           | +           | +                | +            | +           | –           |
| 6             | –  | –           | +           | +           | +           | –           | –           | –            | –           | –           | +           | +                | –            | –           | –           |
| 20            | +  | –           | –           | –           | +           | +           | +           | –            | –           | –           | +           | –                | –            | +           | +           |
| 39            | +  | +           | +           | +           | +           | +           | –           | –            | –           | –           | –           | +                | –            | +           | –           |
| 43            | –  | +           | +           | +           | –           | –           | +           | +            | –           | +           | +           | +                | +            | +           | +           |

ДНК выделяли из 10 индивидуальных проростков для каждого сортообразца по методу Plaschke и др. [9]. Концентрацию измеряли на спектрофотометре Ultraspec 3300pro (Amersham). Маркеры к генам устойчивости отбирали из литературных данных [10]. Положительным контролем служили изогенные линии пшеницы и сорта, содержащие исследуемый ген. Анализ полученных фрагментов амплификации проводили в 1,5%-ном агарозном геле. В качестве маркера молекулярного веса использовали GeneRuler™ 100bp DNA Ladder Plus (Thermo Scientific).

**Результаты и их обсуждение.** Тестирование 49 форм озимого гексаплоидного тритикале на присутствие генов устойчивости к бурой ржавчине пшеницы проводили с помощью 18 маркеров к 15 генам устойчивости пшеницы: *Lr1*; *Lr9*; *Lr10*, *Lr12*; *Lr19*; *Lr20*; *Lr21*; *Lr24*; *Lr25*; *Lr26*, *Lr28*; *Lr34*; *Lr37*; *Lr42* и *Lr47* (табл. 2, 3). В результате проведенного анализа в сортообразцах озимого тритикале выявлен только ген устойчивости *Lr26*.

Ген устойчивости *Lr26* передан в сорта пшеницы с высоким потенциалом продуктивности: Аврора, Кавказ, Безостая 2, Предгорная 2 в результате транслокации 1BL/1RS от сорта ржи Petkus. Короткое плечо хромосомы 1 ржи содержит гены *Lr26*, *Sr31*, *Yr9* и *Pm8*, ответственные за устойчивость к бурой ржавчине (*Puccinia triticina*), стеблевой (*P. graminis* f. sp. *tritici*) и желтой ржавчине (*P. striiformis* f. sp. *tritici*), а также мучнистой росе (*Blumeria graminis* DC) соответственно. В результате серии скрещиваний данные гены в составе транслокации 1RS.1BL (Petkus), 1RS.1AL (Insave), 1RS.1BL и 1RS.1DL (Imperial) переданы в сорта и линии пшеницы *Triticum aestivum*. Вместе с тем у ряда сортов мягкой пшеницы, несущих транслокацию 1RS.1BL, экспрессия гена *Pm8* подавлена. Сорта с транслокацией 1RS.1BL длительное время были защищены и от стеблевой ржавчины функционированием гена *Sr31*, но с 1999 г. появились сообщения, что такие сорта стали поражаться новой агрессивной расой стеблевой ржавчины Ug99 [11].

Успешному использованию транслокации 1RS.1BL в коммерческих сортах способствовал длительный селекционный процесс. Первоначально сорта пшеницы, несущие *Sec-1* локус, уступали другим по хлебопекарным свойствам из-за присутствия секалинов ржи и замещения глютеинов *Glu-3* и глиадинов *GH-1*. В дальнейшем эта проблема была устранена, что расширило возможности использования данной транслокации в селекции пшеницы.

**Таблица 2. ПЦР-детекция локусов, сцепленных с генами устойчивости к бурой ржавчине, в сортообразцах озимого тритикале, районированных в Республике Беларусь, и их фитопатологическая оценка на стадии проростков и молочно-восковой спелости**

| Сорт        | Степень поражения<br>флаг-листа, % | Наличие/отсутствие (+/-) локуса,<br>сцепленного с маркером |                       | Тип устойчивости при заражении клоном<br>бурой ржавчины |    |   |   |   |   |    |
|-------------|------------------------------------|--|-----------------------|---|----|---|---|---|---|----|
|             |                                    | lag95 ( <i>Lr26</i> )                                      | P6M12 ( <i>Lr26</i> ) | 39  | 43 | 1 | 2 | 6 | 5 | 20 |
| Динамо      | 5                                  | -  | -                     | 4   | 4  | 4 | 4 | 3 | 4 | 4  |
| Импульс     | 5                                  | -  | -                     | 0   | 4  | 0 | 0 | 0 | 3 | 0  |
| Гренадо     | 0-1                                | -  | +                     | 3   | 4  | 0 | 0 | 0 | 4 | 0  |
| Антось      | 1                                  | +  | -                     | 0   | 3  | 0 | 3 | 0 | 4 | 0  |
| Лето        | 5-10                               | -  | -                     | 4   | 4  | 0 | 4 | 0 | 3 | 3  |
| Благо       | 5-10                               | +  | -                     | 4   | 4  | 0 | 0 | 0 | 4 | 0  |
| Прометей    | 10-20                              | -  | -                     | 0   | 4  | 0 | 0 | 0 | 4 | 0  |
| Эра         | 10                                 | -  | -                     | 0   | 4  | 0 | 0 | 0 | 4 | 0  |
| Жыцень      | 40                                 | -  | -                     | 1   | 4  | 0 | 0 | 0 | 3 | 0  |
| Михась      | 10-20                              | +  | -                     | 0   | 3  | 4 | 3 | 4 | 4 | 0  |
| Кастусь     | 40                                 | -  | -                     | 4   | 4  | 4 | 4 | 4 | 4 | 3  |
| Амулет      | 20-30                              | -  | -                     | 1   | 4  | 3 | 4 | 0 | 4 | 0  |
| Руно        | 5-10                               | -  | -                     | 1   | 4  | 4 | 3 | 0 | 4 | 3  |
| Алико       | 1-5                                | +  | -                     | 0   | 4  | 0 | 0 | 0 | 4 | 0  |
| Динаро      | 0                                  | -  | +                     | 4   | 3  | 0 | 0 | 0 | 4 | 0  |
| Бальтико    | 40-50                              | +  | -                     | 0   | 4  | 0 | 0 | 0 | 4 | 0  |
| Паво        | 1-5                                | +  | -                     | 0   | 4  | 0 | 0 | 0 | 3 | 0  |
| Янко        | 10-20                              | -  | -                     | 0   | 4  | 0 | 0 | 0 | 4 | 0  |
| Модерато    | 0                                  | +  | +                     | 4   | 3  | 0 | 0 | 0 | 4 | 0  |
| Витон       | 20                                 | -  | -                     | 1   | 4  | 0 | 4 | 0 | 4 | 3  |
| Папсуевская | 0-1                                | -  | +                     | 3   | 4  | 0 | 0 | 0 | 4 | 0  |
| Атлет       | 1                                  | -  | -                     | 1   | 4  | 0 | 0 | 0 | 4 | 0  |
| Жемчуг      | 1-5                                | -  | +                     | 1   | 3  | 0 | 0 | 0 | 4 | 0  |
| Юбилей      | 5                                  | -  | +                     | 0   | 4  | 0 | 0 | 0 | 3 | 0  |
| Ковчег      | 10                                 | -  | +                     | 0   | 4  | 4 | 4 | 3 | 4 | 4  |

Примечание. Локусов, сцепленных с генами *Lr1*; *Lr9*; *Lr10*, *Lr12*; *Lr19*; *Lr20*; *Lr21*; *Lr24*; *Lr25*; *Lr28*; *Lr34*; *Lr37*; *Lr42*; *Lr47*, не обнаружено. То же для табл. 3.

**Таблица 3. ПЦР-детекция локусов, сцепленных с генами устойчивости к бурой ржавчине, в сортообразцах озимого тритикале конкурсного сортоиспытания и их фитопатологическая оценка на стадии проростков и молочно-восковой спелости**

| Шифр<br>образца | Степень поражения<br>флаг-листа, % | Наличие/отсутствие (+/-) локуса,<br>сцепленного с маркером |                       | Тип устойчивости при заражении клоном<br>бурой ржавчины |    |   |   |   |   |    |
|-----------------|------------------------------------|--|-----------------------|---|----|---|---|---|---|----|
|                 |                                    | lag95 ( <i>Lr26</i> )                                      | P6M12 ( <i>Lr26</i> ) | 39  | 43 | 1 | 2 | 6 | 5 | 20 |
| 6/14            | 5-10                               | -  | -                     | 0   | 4  | 0 | 0 | 0 | 4 | 0  |
| 8/14            | 10                                 | -  | -                     | 0   | 4  | 0 | 0 | 0 | 4 | 0  |
| 10/14           | 0                                  | +  | -                     | 0   | 0  | 0 | 0 | 0 | 3 | 0  |
| 13/14           | 5-10                               | +  | +                     | 0   | 4  | 0 | 0 | 0 | 4 | 0  |
| 16/14           | 10                                 | -  | +                     | 0   | 3  | 0 | 0 | 0 | 4 | 0  |
| 23/14           | 25                                 | +  | +                     | 0   | 4  | 0 | 0 | 0 | 1 | 0  |
| 24/14           | 5-10                               | +  | +                     | 0   | 4  | 0 | 0 | 0 | 4 | 0  |
| 26/14           | 25                                 | -  | +                     | 4   | 4  | 0 | 3 | 0 | 4 | 4  |
| 29/14           | 5-10                               | -  | +                     | 4   | 4  | 0 | 0 | 0 | 3 | 0  |
| 62/14           | 25                                 | -  | +                     | 3   | 4  | 0 | 0 | 0 | 4 | 0  |
| 68/14           | 10                                 | -  | +                     | 0   | 4  | 0 | 0 | 0 | 4 | 0  |
| 72/14           | 10                                 | -  | -                     | 4   | 3  | 0 | 0 | 0 | 4 | 0  |
| 77/14           | 25                                 | +  | +                     | 0   | 4  | 0 | 0 | 0 | 3 | 0  |
| 79/14           | 0                                  | -  | +                     | 0   | 0  | 0 | 0 | 0 | 4 | 0  |
| 80/14           | 25                                 | -  | -                     | 3   | 0  | 0 | 0 | 0 | 4 | 0  |
| 81/14           | 25                                 | +  | +                     | 0   | 3  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  |

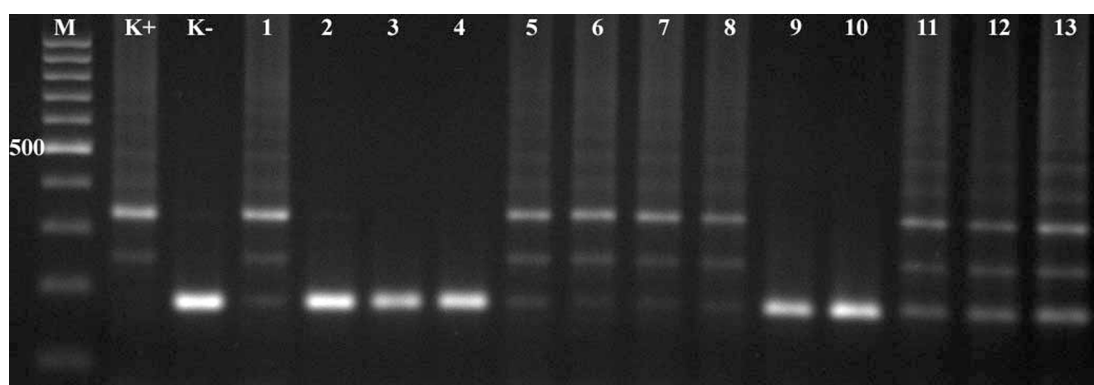
| Шифр образца | Степень поражения флаг-листа, % | Наличие/отсутствие (+/-) локуса, сцепленного с маркером |                       | Тип устойчивости при заражении клоном бурой ржавчины |    |   |   |   |   |    |  |
|--------------|---------------------------------|---|-----------------------|--|----|---|---|---|---|----|--|
|              |                                 | Iag95 ( <i>Lr26</i> )                                   | P6M12 ( <i>Lr26</i> ) | 39   | 43 | 1 | 2 | 6 | 5 | 20 |  |
| 102/14       | 0                               | –   | +                     | 0  | 4  | 0 | 0 | 0 | 4 | 0  |  |
| 103/14       | 0                               | –   | +                     | 0  | 0  | 0 | 0 | 0 | 4 | 0  |  |
| 108/14       | 0                               | –   | –                     | 3  | 4  | 4 | 3 | 4 | 4 | 3  |  |
| 109/14       | 0                               | –   | –                     | 4  | 4  | 4 | 4 | 3 | 3 | 4  |  |
| 114/14       | 0                               | –   | –                     | 0  | 0  | 0 | 0 | 0 | 1 | 0  |  |
| 115/14       | 0                               | –   | –                     | 0  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  |  |
| 116/14       | 0                               | –   | –                     | 4  | 4  | 0 | 0 | 0 | 1 | 0  |  |

Для идентификации гена устойчивости *Lr26* в селекционном материале нами использованы маркеры Iag95 [12] и P6M12-*P* [13]. Транслокация 1BL/1RS с геном устойчивости *Lr26* фланкирована маркером Iag95 с дистальной стороны длинного плеча хромосомы 1BL, а маркером P6M12-*P* – с проксимальной. Маркер Iag95 описан как кодоминантный, т.е. в реакции амплификации присутствуют фрагменты и доминантного, и рецессивного аллеля, в то время как при анализе образцов с помощью маркера P6M12-*P* амплифицируется только фрагмент доминантного аллеля.

При анализе сортов озимого гексаплоидного тритикале с помощью маркера P6M12-*P* фрагменты амплификации 260 и 360 п.н., сцепленные с геном *Lr26*, выявлены у следующих сортов: Гренадо, Динаро, Модерато, Папсуевская, Жемчуг, Юбилей и Ковчег. Анализ набора тритикале конкурсного сортоиспытания с данным маркером показал, что эти фрагменты амплификации присутствуют у следующих образцов: 13/14, 16/14, 23/14, 24/14, 26/14, 29/14, 62/14, 68/14, 77/14, 79/14, 80/14, 81/14, 85/14, 102/14 и 103/14 (см. табл. 2, 3; рис. 1).

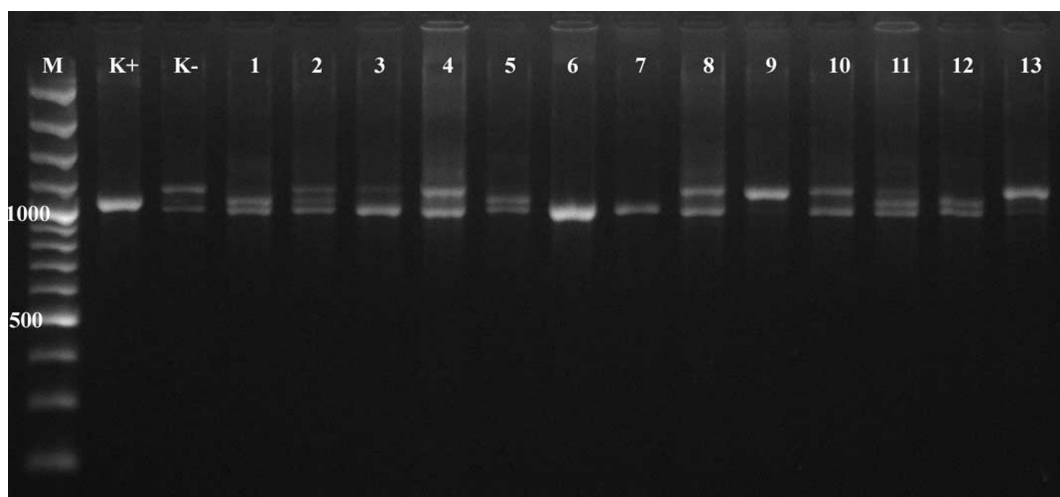
Анализ образцов тритикале с помощью маркера Iag95, расположенного дистально от транслокации 1BL/1RS, с генами устойчивости *Lr26/Yr9/Sr31* выявил присутствие фрагмента амплификации 1050 п.н. у сортов: Антось, Благо, Михась, Алико, Бальтико, Паво, Модерато, и образцов: 10/14, 13/14, 23/14, 24/14, 77/14, 81/14 (см. табл. 2, 3; рис. 2).

В результате у сорта Модерато и образцов 13/14, 23/14, 24/14, 77/14, 81/14 идентифицировались фрагменты амплификации 260 и 360 п.н. (P6M12-*P*) и 1050 п.н. (Iag95), что указывает на присутствие транслокации 1RS.1BL с генами устойчивости *Lr26/Yr9/Sr31*. У сортов тритикале Гренадо, Динаро, Папсуевская, Жемчуг, Юбилей, Ковчег и образцов 16/14, 26/14, 29/14, 62/14, 68/14, 79/14, 85/14, 102/14 и 103/14 присутствовали фрагменты амплификации длиной 260 и 360 п.н. В то же время у перечисленных образцов не наблюдалось присутствия фрагмента амплификации дистального маркера Iag95 в 1050 п.н., что указывает на рекомбинацию в данной области хромосомы, и наоборот, у сортообразцов Антось, Благо, Михась, Алико, Бальтико, Паво и 10/14 выяв-



М – маркер молекулярного веса GeneRuler 100bp Plus DNA Ladder (Thermo Scientific); K+ (положительный контроль) – изогиенная линия пшеницы Тс\*6/ST-1.25 (Тс+*Lr26*); K– (отрицательный контроль) – сорт пшеницы Thatcher (Тс); сорта и сортообразцы озимого тритикале: 1 – Гренадо, 2 – Антось, 3 – Лето, 4 – Благо, 5 – Динаро, 6 – Модерато, 7 – Папсуевская, 8 – Жемчуг, 9 – 6/14, 10 – 10/14, 11 – 13/14, 12 – 16/14, 13 – 23/14

Рис. 1. Результаты разделения методом электрофореза продуктов амплификации в 1,5%-ном агарозном геле, полученные с помощью ПЦР с маркером P6M12-*P* к гену устойчивости *Lr26*



М – маркер молекулярного веса GeneRuler 100bp Plus DNA Ladder (Thermo Scientific); К+ (положительный контроль) – изогенная линия пшеницы Тс\*6/ST-1.25 (Тс+*Lr26*); К– (отрицательный контроль) – сорт пшеницы Thatcher (Тс); сорта и сортообразцы озимого тритикале: 1 – Антось, 2 – Бальтико, 3 – Ковчег, 4 – 8/14, 5 – 72/14, 6 – 77/14, 7 – 79/14, 8 – Прометей, 9 – Эра, 10 – Жыцень, 11 – Михась, 12 – Модерато, 13 – Витон

Рис. 2. Результаты разделения методом электрофореза продуктов амплификации в 1,5%-ном агарозном геле, полученные с помощью ПЦП с маркером *Iag95* к гену устойчивости *Lr26*

лялся только фрагмент амплификации длиной 1050 п.н., причем в гетерозиготном состоянии. В работе R. Маго и др. [13] показано, что образцы пшеницы, у которых наблюдались фрагменты амплификации 260 и 360 п.н., а фрагмент 1050 п.н. отсутствовал, содержали только фрагмент транслокации с геном устойчивости *Lr26*, а гены устойчивости *Yr9/Sr31* отсутствовали. Сортообразцы тритикале, у которых выявлен только фрагмент амплификации длиной 1050 п.н., вероятнее всего будут содержать только гены устойчивости *Yr9* и *Sr31*.

С помощью набора клонов возбудителя бурой ржавчины, различающихся по вирулентности к генам устойчивости пшеницы, была предпринята попытка с помощью фитотеста показать наличие гена *Lr26* на озимых сортообразцах тритикале. У форм, для которых показано наличие этого гена с помощью молекулярных маркеров, не показано четкой зависимости проявления гена *Lr26* при заражении разновирulentными клонами бурой ржавчины, однако показано, что сортообразцы озимого тритикале 114/14, 115/14 обладали устойчивостью к бурой ржавчине как к популяции бурой ржавчине (в поле), так и ко всем исследованным клонам (в лабораторных условиях). Полевой устойчивостью обладали также формы 10/14, 79/14, 102/14, 103/14, 108/14, 109/14, 116/14, сорта Модерато и Динаро.

По результатам анализа популяции патогена 2009 г. ген устойчивости к бурой ржавчине пшеницы *Lr26* оказался эффективным к белорусской популяции патогена, в то же время было обнаружено 11 % изолятов, вирулентных к нему, что свидетельствует о возможности их накопления в случае возделывания сортов, содержащих данный ген [14]. В то же время вирулентные к *Lr26* клоны гриба *Puccinia triticina* выявлены во всех регионах России, где ген *Lr26* относится к группе генов устойчивости, утративших свою эффективность в связи с широким возделыванием сортов Аврора и Кавказ.

В работу также были взяты и маркеры к генам устойчивости, локализованным в D-геноме пшеницы: *Lr1* (5DL), *Lr19* (7DL), *Lr21* (5DS), *Lr24* (3DL), *Lr34* (7DS) и *Lr42* (1DS). В настоящее время гены устойчивости *Lr21* и *Lr34* клонированы и разработаны маркеры, с помощью которых возможно выявлять как наличие гена, так и его отсутствие. Так, для идентификации гена устойчивости *Lr34* в сортообразцах как озимого, так и ярового тритикале использовали мультиплексную реакцию с двумя парами базовых праймеров: L34SPF/L34DINT13R2 *Lr34*(+) и L34DINT9F/L34MINUSR *Lr34*(–) (маркер *Cssfr5*) [15]. Положительным контролем служили сорт Frontana и линия VL404. В результате фрагмент амплификации длиной 751 п.н., характерный для генотипов, несущих функциональный аллель (аллель *Lr34*(+), не был выявлен у озимых сортообразцов тритикале. В то же время и фрагмент амплификации 523 п.н. (аллель *Lr34*(–)) также не был выявлен у сортообразцов тритикале. Та же картина наблюдалась и при использовании маркеров

к генам устойчивости *Lr19* и *Lr21*, что указывает на отсутствие фрагментов D-генома для этих генов устойчивости.

**Закключение.** Анализ ДНК 49 сортов и образцов озимого тритикале показал, что в них отсутствуют гены устойчивости *Lr1*; *Lr9*; *Lr10*, *Lr12*; *Lr19*; *Lr20*; *Lr21*; *Lr24*; *Lr25*; *Lr28*; *Lr34*; *Lr37*; *Lr42*; *Lr47*. Обнаружено, что у озимого сорта тритикале Модерато и образцов 13/14, 23/14, 24/14, 77/14, 81/14 идентифицирована транслокация 1RS.1BL с генами устойчивости *Lr26/Yr9/Sr31*. Не удалось выявить экспрессию гена *Lr26* с помощью фитотеста. Показано, что сортообразцы озимого тритикале конкурсного сортоиспытания 114/14, 115/14 обладали устойчивостью к бурой ржавчине как к популяции (в поле), так и ко всем исследованным клонам (в лабораторных условиях). Полевой устойчивостью обладали также образцы 10/14, 79/14, 102/14, 103/14, 108/14, 109/14, 116/14, сорта Модерато и Динаро.

## Литература

1. Сельское хозяйство Республики Беларусь: статист. сб. / Нац. статист. комитет Респ. Беларусь; ред. В. И. Зиновский [и др.]. – Минск, 2014. – 370 с.
2. Прохорова, С. В. Фитосанитарное состояние посевов тритикале / С. В. Прохорова, В. С. Тершук, А. И. Немкович // Изв. Акад. аграр. наук Респ. Беларусь. – 2000. – № 2. – С. 51–56.
3. Турка, М. Enhancing the resistance of triticale by using genes from wheat and rye / М. Турка, J. Chelkowski // Journal of Applied Genetics. – 2004. – Vol. 45, N 3. – P. 283–295.
4. Catalogue of gene symbols for wheat. 2014 [Electronic resurse] / R. A. McIntosh [et al.]. – Mode of access: <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/download.jsp>. – Date of access: 11.12.2014.
5. Schlegel, R. Genes, markers and linkage data of rye (*Secale cereale* L.), 7th updated inventory 2008 [Electronic resurse] / R. Schlegel, V. Korzun. – Mode of access: <http://www.rye-gene-map.de/> – Date of access 18.12.2014.
6. Михайлова, Л.А. Лабораторные методы культивирования возбудителя бурой ржавчины пшеницы *Puccinia recondita* Rob. ex. Desm. f.sp. *tritici* / Л. А. Михайлова, К. В. Квитко // Микология и фитопатология. – 1970. – Т. 4, вып. 3. – С. 269–273.
7. Mains, E. V. Physiological specialization in the leaf rust of wheat, *Puccinia triticina* Erikss / E. V. Mains, H. S. Jackson // Phytopathology. – 1926. – Vol. 16, N 8. – P. 89–120.
8. Гешеле, Э.Э. Основы фитопатологической оценки в селекции растений / Э. Э. Гешеле. – М.: Колос, 1978. – 208 с.
9. RFLP-mapping of genes affecting plant height and growth habit in rye / J. Plaschke [et al.] // Theoretical and Applied Genetics. – 1993. – Vol. 85, N 8. – P. 1049–1054.
10. Долматович, Т.В. ДНК-технология идентификации генов устойчивости пшеницы к возбудителю бурой ржавчины: метод. рекомендации / Т. В. Долматович, А. А. Булойчик / М-во сел. хоз-ва и прод. Респ. Беларусь, Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т генетики и цитологии НАН Беларуси. – Минск, 2013. – 64 с.
11. Detection of virulence to wheat stem rust resistance gene *Sr31* in *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* in Uganda / Z. A. Pretorius [et al.] // Plant Disease. – 2000. – Vol. 84, N 2. – P. 203.
12. Identification and mapping of molecular markers linked to rust resistance genes located on chromosome 1RS of rye using wheat-rye translocation lines / R. Mago [et al.] // Theor. Appl. Genet. – 2002. – Vol. 104. – P. 1317–1324.
13. High-resolution mapping and mutation analysis separate the rust resistance genes *Sr31*, *Lr26* and *Yr9* on the short arm of rye chromosome 1 / R. Mago [et al.] // Theor. Appl. Genet. – 2005. – Vol. 112. – P. 41–50.
14. Булойчик А.А. Частота встречаемости генов вирулентности в белорусских популяциях *Puccinia triticina* / А. А. Булойчик, В. С. Борзяк, Е. А. Волуевич // Микология и фитопатология. – 2011. – Т. 45, №5. – С. 436–442.
15. Gene-specific markers for the wheat gene *Lr34/Yr18/Pm38* which confers resistance to multiple fungal pathogens / E. S. Lagudah [et al.] // Theor. Appl. Genet. – 2009. – Vol. 119, N 5. – P. 889–898.

T. V. DOLMATOVICH, A. A. BULOICHIK, V. S. BORZYAK, S. I. GRIB, V. N. BUSHTEVICH

### MARKING OF RESISTANCE GENES TO LEAF RUST AND THEIR EXPRESSION AT DIFFERENT STAGES OF ONTOGENESIS IN WINTER TRITICALE VARIETIES AND SAMPLES

#### Summary

The laboratory evaluation of resistance of 49 samples of winter triticale to agent clones of leaf rust has been carried out. It's established that in the winter triticale variety Moderato and samples 13/14, 23/14, 24/14, 77/14, 81/14 translocation 1RS.1BL is identified with resistance genes *Lr26/Yr9/Sr31*. It is shown that winter triticale samples 114/14, 115/14 is resistant to leaf rust at different stages of ontogenesis. Samples 10/14, 79/14, 102/14, 103/14, 108/14, 109/14, 116/14 of Moderato and Dinaro varieties also have fielding resistance.