



ПОДБОР ИНТРОГРЕССИВНЫХ ЛИНИЙ ПШЕНИЦЫ И ТРИТИКАЛЕ ПО КАЧЕСТВУ ЗЕРНА И УСТОЙЧИВОСТИ К БОЛЕЗНЯМ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ОРГАНИЧЕСКОМ ЗЕМЛЕДЕЛИИ

✉ Ержебаева Р.С., Абекова А.М., Базылова Т.А., Масимгазиева А.С.,
Мереева Т.Д., Кожакметов К.К., Бастаубаева Ш.О., Слямова Н.Д.

Казахский научно-исследовательский институт земледелия и растениеводства
Алматинская область, пос. Алмалыбак, Республика Казахстан

✉ e-mail: raushan_2008@mail.ru

Изучены 17 интрогрессивных линий и сортов озимой пшеницы и 2 линии озимой тритикале (коллекция Казахского научно-исследовательского института земледелия и растениеводства) для определения возможности их применения в органическом земледелии. Исследования проведены в 2021, 2022 гг. в предгорной зоне юго-востока Республики Казахстан на базе научно-полевого стационара Казахского научно-исследовательского института земледелия и растениеводства. Анализ на содержание генетически модифицированных источников показал отсутствие в пробах регуляторных элементов 35S и NOS. Осуществленная методом ПЦР ДНК-идентификация с целью обнаружения эффективных генов бурой, стеблевой и желтой ржавчины (*Lr9*, *Lr26/Sr31/Yr9*, *Lr34/Yr18/Sr57*, *Lr35/Sr39*, *Sr2*, *Sr36*) позволила выделить четыре образца (1633-40, 1675-170, 1723-11, 2041-7) с ценными генами *Lr34/Yr18/Sr57/Pm38* и один образец (1127-7) с генами *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8*. Фитопатологическая оценка устойчивости зерновых культур выполнена на естественном фоне по соответствующим шкалам учета пораженности растений бурой стеблевой и желтой ржавчиной. В результате обнаружены девять устойчивых к двум видам ржавчины (бурая и желтая) образцов с типом реакции R и нулевым процентом поражения (1127-7, 1675-170, 1676, 2005-13, 2041-13, 2046-1, KZ231, T-409-1, T-989-1). Стеблевая ржавчина в годы исследований не была зафиксирована. Оценка качества зерна проведена на основании требований соответствующих ГОСТов по следующим параметрам: натура зерна, стекловидность, содержание протеина и клейковины, качество клейковины. Установлено, что все рассматриваемые образцы по показателям стекловидности и содержанию клейковины соответствуют классу сильных пшениц. Выделены образцы с высокими показателями натуры зерна (≥ 800 г/л; 1674-27, 1675-149, 1675-170), содержания белка ($\geq 16\%$; 2041-13, 2005-13, 2041-7, 1716-24, 1675-149, 1127-7, 1633-31, 1717-27, KZ231), качества и количества клейковины (1127-7, KZ231). По итогам комплексной оценки отмечены две линии (1127-7, KZ231), продемонстрировавшие хорошую устойчивость к двум видам ржавчины и высокое качество зерна. Данные линии рекомендованы для использования в органическом земледелии.

Ключевые слова: интрогрессивные линии пшеницы, генетически модифицированные источники, качество зерна, устойчивость к болезням, ДНК-идентификация

SELECTION OF INTROGRESSIVE WHEAT AND TRITICALE LINES FOR GRAIN QUALITY AND RESISTANCE TO DISEASES FOR USE IN ORGANIC FARMING

✉ Yerzhebaeva R.S., Abekova A.M., Bazylova T.A., Massingaziyeva A.S., Mereyeva T.D.,
Kozhakhmetov K.K., Bastaubayeva Sh.O., Slyamova N.D.

Kazakh Research Institute of Agriculture and Plant Growing
Almalybak, Almaty region, Republic of Kazakhstan

✉ e-mail: raushan_2008@mail.ru

17 introgressive lines and varieties of winter wheat and 2 lines of winter triticale (collection of the Kazakh Research Institute of Agriculture and Plant Growing) were studied to determine the

possibility of their use in organic farming. The studies were conducted in 2021–2022 in the foothill zone of the south-east of the Republic of Kazakhstan on the basis of the research field stationary of the Kazakh Research Institute of Agriculture and Plant Growing. Analysis for genetically modified sources showed the absence of 35S and NOS regulatory elements in the samples. DNA identification by PCR to detect effective brown, stem and yellow rust genes (*Lr9*, *Lr26/Sr31/Yr9*, *Lr34/Yr18/Sr57*, *Lr35/Sr39*, *Sr2*, *Sr36*) made it possible to identify 4 samples (1633-40, 1675-170, 1723-11, 2041-7) with valuable *Lr34/Yr18/Sr57/Pm38* genes and 1 sample (1127-7) with *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8* genes. Phytopathological assessment of the resistance of cereal crops was carried out on the natural background using the appropriate scales of recording the infestation of plants by brown stem rust and yellow rust. As a result, 9 samples resistant to 2 types of rust (brown and yellow) with reaction type R and zero percent were found (1127-7, 1675-170, 1676, 2005-13, 2041-13, 2046-1, KZ231, T-409-1, T-989-1). Stem rust in the years of research was not recorded. Grain quality assessment was carried out on the basis of the requirements of relevant GOSTs on the following parameters: grain nature, vitreousness, protein and gluten content, gluten quality. It was found that all the samples under consideration in terms of vitreousness and gluten content correspond to the class of strong wheat. Samples with high grain natures (≥ 800 g/l; 1674-27, 1675-149, 1675-170), protein content ($\geq 16\%$; 2041-13, 2005-13, 2041-7, 1716-24, 1675-149, 1127-7, 1633-31, 1717-27, KZ231), quality and quantity of gluten (1127-7, KZ231) were selected. According to the results of comprehensive evaluation, 2 lines (1127-7, KZ231), which showed good resistance to 2 types of rust and high grain quality, were noted. These lines are recommended for use in organic farming.

Keywords: introgressive wheat lines, genetically modified sources (GMS), grain quality, disease resistance, DNA identification

Для цитирования: Ержебаева Р.С., Абекова А.М., Базылова Т.А., Масимгазиева А.С., Мереева Т.Д., Кожакметов К.К., Бастаубаева Ш.О., Слямова Н.Д. Подбор интрогрессивных линий пшеницы и тритикале по качеству зерна и устойчивости к болезням для использования в органическом земледелии // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2023. Т. 53. № 2. С. 110–120. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2023-2-14>

For citation: Yezhebaeva R.S., Abekova A.M., Bazyllova T.A., Massingaziyeva A.S., Mereyeva T.D., Kozhakhmetov K.K., Bastyubayeva Sh.O., Slyamova N.D. Selection of introgressive wheat and triticale lines for grain quality and resistance to diseases for use in organic farming. *Sibirskii vestnik sel'skokhozyaistvennoi nauki = Siberian Herald of Agricultural Science*, 2023, vol. 53, no. 2, pp. 110–120. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2023-2-14>

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Благодарность

Исследования проведены в рамках бюджетной программы 267 «Повышение доступности знаний и научных исследований», подпрограммы 101 «Программно-целевое финансирование научных исследований и мероприятий» Министерства сельского хозяйства Республики Казахстан, программы BR10764907 «Выработка технологий ведения органического сельского хозяйства по выращиванию сельскохозяйственных культур с учетом специфики регионов, цифровизации и экспорта» на 2021–2023 гг.

Acknowledgements

The studies were carried out within the framework of the budget program 267 of the Ministry of Agriculture of the Republic of Kazakhstan «Improving the availability of knowledge and scientific research», subprogram 101 «Program-targeted financing of scientific research and activities», under the IRN program BR10764907 «Development of technologies for organic agriculture for growing crops, taking into account the specifics of the regions, digitalization and export» for 2021–2023.

ВВЕДЕНИЕ

Пшеница – стратегически значимая зерновая культура Казахстана. Площадь ее возделывания в республике в 2021 г. составила 12 863,8 тыс. га¹. Стабильное увеличение производства зерна пшеницы является од-

ним из важных направлений обеспечения продовольственной безопасности страны. Оно активно используется в продовольственных, кормовых и технических целях. Большая вовлеченность этой культуры в производственный процесс, обширные пло-

¹Агентство по стратегическому планированию и реформам Бюро национальной статистики Республики Казахстан: офиц. сайт. URL: <https://stat.gov.kz/>

щади посевов, значительная доля в рационе питания человека делают проблему производства органической пшеницы весьма актуальной. Важны такие свойства пшеницы, как высокая питательная ценность, вкус, устойчивость к болезням и экологическая пластичность. Поскольку основная часть современных сортов выведена для традиционного земледелия, сторонникам органического земледелия приходится искать или даже создавать собственные сорта, которые хорошо работают в органических системах² [1].

Запас генетического материала мягкой пшеницы, контролирующего устойчивость к воздействию вредных факторов, в настоящее время практически исчерпан. Ограничение разнообразия генов создает благоприятные для развития болезней условия, что служит одним из лимитирующих факторов селекционной работы³ [2, 3]. Богатейший запас генетического разнообразия представлен в генофонде диких видов и сородичей пшеницы. Многие из них успешно использованы для передачи полезных признаков (устойчивость к болезням, засухо- и солеустойчивость, зимостойкость, высокое содержание белка) мягкой и твердой пшенице⁴. Эффективность привнесения высокой устойчивости к болезням от диких сородичей доказана рядом исследователей [4, 5]. Линии и сорта пшеницы с хорошей устойчивостью к болезням являются ценным материалом для органического земледелия в связи с запретом на использование пестицидов, синтетических минеральных удобрений, регуляторов роста и генетически модифицированных организмов (ГМО).

В Казахском научно-исследовательском институте земледелия и растениеводства

(КазНИИЗиР) создан уникальный константный материал озимой и яровой пшеницы с участием *T. militinae* Zhuk., *T. timopheevii* Zhuk., *T. kiharae* Dorof. et Migusch., *Ae. cylindrica* L., *Ae. triaristata* Willd [6], который может быть апробирован в условиях органического земледелия.

Цель исследования – изучение интрогрессивных линий озимой пшеницы и тритикале по качеству зерна, устойчивости к болезням, отсутствию генетической модификации для использования в органическом земледелии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом для эксперимента послужила коллекция из 17 интрогрессивных линий и сортов озимой пшеницы и 2 линий озимой тритикале, подобранная специалистами КазНИИЗиР. В качестве положительного контроля в процессе ПЦР-идентификации использованы изогенные линии пшеницы с генами *Lr9*, *Lr26*, *Lr34*, *Lr35*, *Sr36*, *Sr39*, *Sr2*, полученные в лаборатории иммунитета и защиты растений КазНИИЗиР (материал СИММИТ).

Опыты по фитопатологической оценке коллекции интрогрессивных линий пшеницы и тритикале на устойчивость к грибным болезням проводились в 2021, 2022 гг. на естественном фоне научных полевых стационаров КазНИИЗиР, расположенных в предгорной зоне Алматинской области (43° с.ш., 77° в.д., 740 м над уровнем моря).

Оценка устойчивости к возбудителю стеблевой ржавчины осуществлялась по шкале Стэкмана и Левина⁵, листовой – по шкале Майнса и Джексона⁶, желтой – по шкале Гасснера и Штрайба⁷. Степень поражения

²Чудинов В.А., Савин Т.В., Кожухметов К.К., Абукалиева А.И. Устойчивые к болезням дигиплоидные и интрогрессивные линии пшеницы для органического земледелия // Сборник материалов Всероссийской научной конференции с международным участием и школы молодых ученых. Иркутск, 2018. С. 1008–1011.

³Rsaliev Sh.S., Koyshybaev M.K., Morgunov A.I., Kolmer D. Analysis of the composition of the stem and leaf rust of wheat in Kazakhstan // Modern Problems of Plant Protection and Quarantine: Collection of articles of the Int. scientific-practical conf. Almaty, 2005. P. 267–272.

⁴Давоян Р.О. Использование генофонда дикорастущих сородичей в улучшении мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.): автореф. ... д-ра биол. наук. Краснодар, 2003. 50 с.

⁵Stakman E.C., Stewart D.M., Loegering W.Q. Identification of physiologic races of *Puccinia graminis* var. *tritici* (U.S. Dep. Agric. Agric. Res. Serv. E-617). Washington, 1962. 154 p.

⁶Mains E.B., Jackson H.C. Physiologic specialization in the leaf rust of wheat *Puccinia tritici* Erikss. // Phytopath. 1926. Vol. 16. N 1. P. 89–120.

⁷Gassner G., Straub W. Die bestimmung der biologischen rassen des weizengelbrostes (*Puccinia glumarum* f. sp. *tritici* (Schmidt.) Erikss. und Henn.) // Arbeiten der Biologischen Reichsanstalt für Land und Forstwirtschaft. Berlin, 1932. Bd. 20. S. 141–163.

определялась по шкале Петерсона⁸. В качестве стандарта использовали восприимчивые сорта пшеницы – Саратовская 29 и Могоссо. Учет вели с момента проявления болезни каждые 10 сут до фазы молочно-восковой спелости зерна.

Геномную ДНК выделяли из 2-го листа 11–12-дневных проростков тритикале с помощью методики S.L. Delaporta⁹.

Анализ содержания генетически модифицированных источников (ГМИ) проводили согласно СТ РК1346–2005¹⁰. Применялся метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) с целью обнаружения мишеней – 35S промотора (из вируса мозаики цветной капусты (CaMV 35S)), терминатора NOS (из *Agrobacterium tumefaciens*). В качестве положительного (ERM-BF410ер) и отрицательного (ERM-BF410ар) контроля использованы сертифицированные стандартные образцы сои (эталонные образцы).

Идентификация носителей генов устойчивости также осуществлялась методом ПЦР. Анализ проводили в амплификаторе «Eppendorf Mastercycler pro» (Германия). Были использованы молекулярные маркеры к генам *Lr9*^{11,12}, *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8*^{13,14},

*Lr34/Yr18/Sr57/Pm38*¹⁵, *Lr35/Sr39*¹⁶ [7], *Sr2*¹⁷ [8], *Sr36*¹⁸. Реакционная среда для ПЦР-амплификации состояла из: 2 мкл (50 ng) исследуемой ДНК, 2 мкл реакционного буфера (10 × TagBuffer), 1 мкл dNTP (4 mM) – смесь четырех dNTP, 250 μM каждого из двух праймеров, 2 мкл (25 mM) MgCl₂, 0,5 мкл (5u/μl) *Taq*-полимеразы (ООО «Биосан», г. Новосибирск, Россия), 10,7 мкл стерильной воды, свободной от нуклеазы (Biotechnology Grade).

Разделение продуктов амплификации проводили в 1,5–2,0%-х агарозных гелях («Sigma Life Science», США), а также в 8%-м акриламидном геле («Sigma Life Science», Китай), окрашенных бромистым этидием. Визуализацию продуктов амплификации осуществляли в геледокументирующей камере (QUANTUMST 4, Франция). В качестве маркеров молекулярных весов использовали ДНК-маркеры «Step50 plus» и «Step100» (ООО «Биолабмикс», г. Новосибирск, Россия).

Для анализа качества зерна применяли образцы из урожая 2020 и 2021 гг. Оценку натурности зерна проводили по ГОСТ 10840–64¹⁹, стекловидности – по ГОСТ 10987–76²⁰.

⁸Peterson R.F., Campbell A.B., Hannah A.E. A diagrammatic scale for estimating rust intensity on leaves and stems of cereals // Canadian Journal of Research. 1948. Vol. 26. N 5. P. 496–500.

⁹Delaporta S.L., Wood J., Hicks J.B. A plant DNA miniprep. Version II // Plant Molecular Biology Reporter. 1983. Vol. 4. P. 19–21.

¹⁰СТ РК1346–2005 (ГОСТ Р 52173–2003). Метод идентификации генетически модифицированных источников (ГМИ) растительного происхождения. Астана, 2006.

¹¹Schachermayer G., Siedler H., Gale M.D. Identification and localization of molecular markers linked to the *Lr9* leaf rust resistance gene of wheat // Theoretical and Applied Genetics. 1994. Vol. 88. P. 110–115.

¹²Gupta S.K., Charpe A., Koul S., Prabhu K.V., Haq Q.M. Development and validation of molecular markers linked to an *Aegilops umbellulata*-derived leaf-rust-resistance gene, *Lr9*, for marker-assisted selection in bread wheat // Genome. 2005. Vol. 48. N 5. P. 823–830.

¹³Mago R., Spielmeier W., Lawrence G.J., Lagudah E.S., Ellis J.G., Pryor A. Identification and mapping markers linked to rust resistance genes located on chromosome 1RS of rye using wheat-rye translocation lines // Theoretical and Applied Genetics. 2002. Vol. 104. P. 1317–1324.

¹⁴Mago R., Miah H., Lawrence G.J., Wellings C.R., Spielmeier W., Bariana H.S., McIntosh R.A., Pryor A.J., 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 // Theoretical and Applied Genetics. 2005. Vol. 112. P. 41–50.

¹⁵Lagudah E.S., McFadden H., Singh R.P., Huerta-Espino J., Bariana H.S., Spielmeier W. Molecular genetic characterisation of the *Lr34/Yr18* slow rusting resistance gene region in wheat // Theoretical and Applied Genetics. 2006. Vol. 114. P. 21–30.

¹⁶Gold 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 Biotechnology. 1999. Vol. 2. N 1. P. 35–40.

¹⁷Hayden M.J., Kuchel H., Chalmers K.J. Sequence tagged microsatellites for the *Xgwm533* locus provide new diagnostic markers to select for the presence of stem rust resistance gene *Sr2* in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) // Theoretical and Applied Genetics. 2004. Vol. 109. P. 1641–1647.

¹⁸Hayden M.J., Sharp P.J. Sequence-tagged microsatellite profiling (STMP): a rapid technique for developing SSR markers // Nucleic Acids Research. 2001. Vol. 29. P. 43.

¹⁹ГОСТ 10840–64. Зерно. Методы определения натурности. М.: Стандартинформ, 2009.

²⁰ГОСТ 10987–76. Зерно. Методы определения стекловидности. М.: Стандартинформ, 2009.

Содержание белка определяли методом Кьельдаля по ГОСТ 10846–91²¹. Оценку количества и качества содержащейся в муке клейковины осуществляли в лабораторных условиях согласно ГОСТ 27839–2013²². Для отмывания клейковины применяли систему МОК-1, для оценки качества – прибор ИДК-4М (измеритель деформации клейковины). Среднее значение ($\bar{X}$) и стандартное отклонение (σ) рассчитывали с помощью программы Microsoft Office Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Идентификация ГМО. В целях подтверждения того, что в составе рассматриваемых образцов отсутствуют ГМО, проведен ПЦР-анализ на содержание ГМИ (по СТ РК1346–2005). Данный метод направлен на обнаружение регуляторных элементов, которые являются наиболее часто используемыми в генно-инженерных конструкциях: 35S промотора вируса мозаики цветной капусты (CaMV 35S) и терминатора NOS (из *Agrobacterium tumefaciens*). ПЦР-идентификация показала, что характерные фрагменты длиной 195 п. н. для 35S и 190 п. н. для NOS не обнаружены ни в одном из изученных образцов. Наличие хотя бы

одного из них позволяет говорить о присутствии генно-модифицированной вставки. Амплификация фрагментов по 35S и NOS происходила только с продукцией, содержащей ГМИ, у эталонных образцов. Результаты идентификации ГМИ методом ПЦР при обследовании 19 образцов представлены в таблице. На рис. 1 приведены данные ПЦР-анализа девяти образцов.

Идентификация ценных генов устойчивости к грибным болезням. Проведен молекулярный анализ с использованием метода ПЦР на обнаружение эффективных генов бурой (*Lr*-), стеблевой (*Sr*-) и желтой (*Yr*-) ржавчины (*Lr9*, *Lr26/Sr31/Yr9*, *Lr34/Yr18/Sr57*, *Lr35/Sr39*, *Lr34*, *Sr2*, *Sr36*) у 17 интрогрессивных линий озимой пшеницы и двух линий тритикале.

В ходе ПЦР-анализа по выявлению носителей гена *Lr9* использованы два маркера – *J13* и *SCS5*. Установлено, что амплификация ожидаемых фрагментов длиной 1100 и 550 п. н. соответственно зафиксирована только у положительного контроля *Phyton Lr9*.

Гены *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8*, ответственные за устойчивость к бурой, стеблевой и желтой ржавчине, а также мучнистой росе, соответственно локализируются на

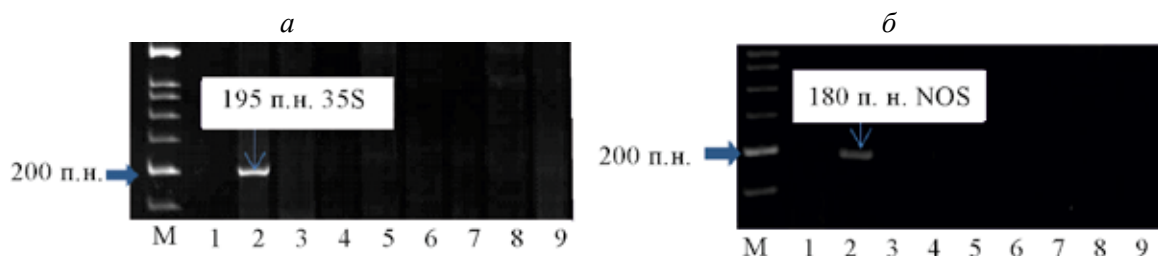


Рис. 1. Результаты идентификации регуляторных элементов 35S и NOS у образцов интрогрессивных линий озимой пшеницы и тритикале:

a – с маркером на 35S; *б* – с маркером на NOS

М – ДНК-маркер Step50 plus (1500 п. н.); 1 – стандартный образец ERMBF410ар (отрицательный контроль);

2 – стандартный образец ERM-BF410ер (положительный контроль); 3 – холостая проба (H_2O); 4 – 1716-24; 5 – 1717-27; 6 – 1723-11; 7 – 2005-13; 8 – 2041-7; 9 – 2041-13

Fig. 1. Results of identification of regulatory elements 35S and NOS in accessions of introgressive lines of winter wheat and triticale:

a – with a marker at 35S; *б* – with a marker on NOS

M – DNA marker Step50 plus (1500 bp); 1 – Standard sample ERMBF410ap (negative control); 2 – Standard sample ERM-BF410ep (positive control); 3 – Blank sample (H_2O); 4 – 1716-24; 5 – 1717-27; 6 – 1723-11; 7 – 2005-13; 8 – 2041-7; 9 – 2041-13

²¹ГОСТ 10846–91. Зерно и продукты его переработки. Метод определения белка. М.: Стандартинформ, 2009.

²²ГОСТ 27839–2013. Мука пшеничная. Методы определения количества и качества клейковины. М.: Стандартинформ, 2014.

Результаты оценки интрогрессивных линий озимой пшеницы и тритикале по устойчивости к ржавчине и качеству зерна
Results of evaluation of introgressive lines of winter wheat and triticale in terms of rust resistance and grain quality

Номер каталога	Происхождение	ГМО м-шени	Степень поражения, тип реакции устойчивости к ржавчине		Гены устойчивости к грибным болезням					На-тура, г/л	Стек-ловид-ность, %	Про-те-ин, %	Клей-кови-на, %	ИДК, ед.
			бурая	желтая	Lr9	Lr26/ Sr31/Yr9/ Pm8	Lr34/ Yr18/ Sr57/ Pm38	Lr35/ Sr39	Sr2, Sr36					
1127-7	Пржевальская × АД 221-10 Япония	–	0R	0R	–	+	–	–	–	707	71,0	16,3	34,8	80,0
1633-31	(Безостая 1 × <i>Ae. triaristata Willd</i>) × Безостая 1	–	5–10R	0R	–	+	–	–	–	774	73,0	16,3	49,4	115,0
1633-40	(Безостая 1 × <i>Ae. triaristata Willd</i>) × Безостая 1	–	1–5R	0R	–	–	+	–	–	789	62,0	15,4	47,0	120,0
1674-27	(Жетысу × <i>T. kiharae</i>) × Алмалы	–	15–20MR	0R	–	–	–	–	–	825	74,5	13,6	42,4	92,5
1675-149	(Эритроспермум 350 × <i>T. kiharae</i>) × Эритроспермум 350	–	20–25MR	0R	–	–	–	–	–	815	80,6	16,4	47,7	106,0
1675-170	(Эритроспермум 350 × <i>T. kiharae</i>) × Эритроспермум 350	–	0R	0R	–	–	+	–	–	807	78,0	15,9	44,0	91,6
1676	Стекловидная 24 × <i>T. timopheevii</i>	–	0R	0R	–	+	–	–	–	762	68,6	15,9	46,1	106,6
1716-23	(Безостая 1 × <i>Ae. cylindrica</i>) × Карлыгаш	–	40–50MS	20–25MR	–	–	–	–	–	770	72,0	13,7	44,0	105,0
1716-24	(Безостая 1 × <i>Ae. cylindrica</i>) × Карлыгаш	–	40–50MS	0R	–	–	–	–	–	790	66,0	17,0	47,0	95,0
1717-27	(Безостая 1 × <i>Ae. cylindrica</i>) × Стекловидная 24	–	5–10R	0R	–	+	–	–	–	742	75,0	16,1	42,6	95,0
1723-11	(Безостая 1 × <i>Ae. cylindrica</i>) × <i>T. kiharae</i>	–	15–20MR	0R	–	–	+	–	–	772	69,5	14,5	43,4	107,5
2005-13	(Эритроспермум 121 × <i>Ae. triaristata Willd</i>) × Эритроспермум 121	–	0R	0R	–	+	–	–	–	763	83,0	17,3	49,6	105,0
2041-7	(ПЭГ 347 × <i>T. kiharae</i>) × Жадыра	–	10–15MR	0R	–	–	+	–	–	763	83,0	17,3	49,6	105,0
2041-13	(ПЭГ 347 × <i>T. kiharae</i>) × Жадыра	–	0R	0R	–	–	–	–	–	761	67,0	19,0	59,0	105,0
2046-1	(Стекловидная 24 × <i>T. timopheevii</i>) × Карлыгаш	–	0R	0R	–	–	–	–	–	798	63,6	15,1	44,9	110,0
KZ231	(Безостая 1 × <i>Ae. triaristata Willd</i>) × Карлыгаш	–	0R	0R	–	–	–	–	–	785	64,0	16,0	38,6	82,5
Век	6583 × <i>T. timopheevii</i>	–	25–30MR	5–10R	–	–	–	–	–	754	63,0	14,2	43,0	120,0
T-409-1	(НАД 508 × АД 206) × Таза	–	0R	0R	–	+	–	–	–	690	55,0	14,0	30,0	95,0
T-989-1	(АД 322 × 119 АД) × Прогресс × Таза	–	0R	0R	–	–	–	–	–	740	–	14,0	27,7	105,0

коротком плече хромосомы 1 ржи и тесно сцеплены между собой. Данные гены в составе пшенично-ржаных транслокаций 1BL.RS (Petkus), 1AL.1RS (Insave), 1BL.RS и 1DL.1RS (Imperial) были успешно переданы в сорта и линии *Triticum aestivum* L. Для проверки их наличия в изучаемых образцах проведена ДНК-идентификация с применением маркеров Iag95 и P6M12. В качестве положительного контрольного образца использован сорт ржи Памирская. По результатам ПЦР-анализа с маркером P6M12 установлено наличие фрагментов длиной

260 и 360 п. н. у пяти интрогрессивных линий пшеницы (1127-7, 1633-31, 1676, 1717-27, 2005-13) и одной линии тритикале (Т-409-1) (см. рис. 2, а). Амплификация фрагмента длиной 1050 п.н. с маркером Iag95 зафиксирована только по линии 1127-7. Анализ на основании двух маркеров позволил идентифицировать линию 1127-7 как носителя *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8*. Другие пять линий являются носителями только гена *Lr26* (см. таблицу).

Для детектирования наличия генов *Lr35/Sr39* в изучаемых линиях пшеницы

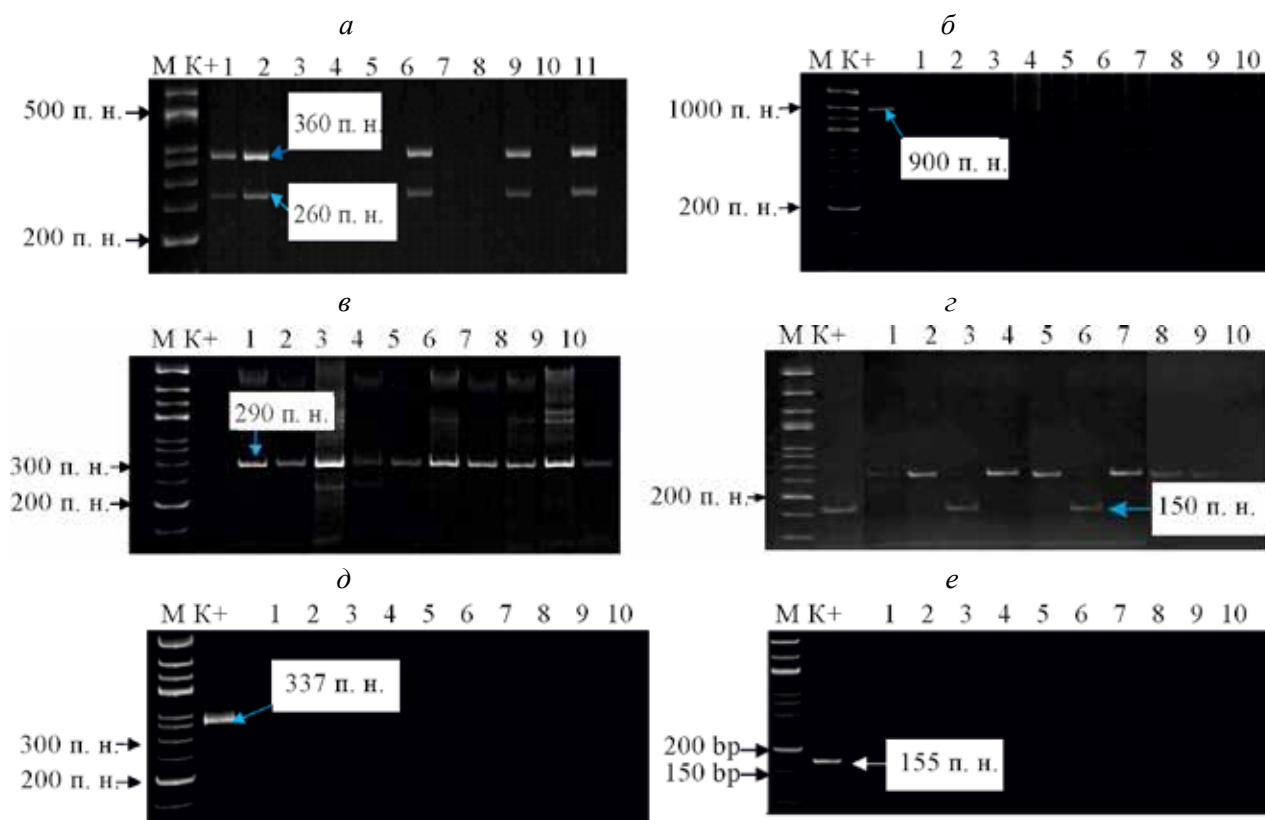


Рис. 2. Продукты амплификации ДНК-образцов интрогрессивных линий пшеницы и тритикале с использованием молекулярных маркеров:

а – идентификация генов *Lr26/Sr31/Yr9* с маркером P6M12; б – идентификация генов *Lr35/Sr39* с маркером *Sr39*; в – идентификация генов *Lr35/Sr39* с маркером BE500705; г – идентификация генов *Lr34/Yr18/Sr57* с маркером *csLV34*; д – идентификация гена *Sr2* с маркером CsSr2; е – идентификация гена *Sr36* с маркером *Xstm773-2*

М – маркер молекулярных весов Step50; К+ – положительный контроль; 1 – 1127-7; 2 – 1633-31; 3 – 1633-40; 4 – 1674-27; 5 – 1675-149; 6 – 1675-170; 7 – 1676; 8 – 1716-23; 9 – 1716-24; 10 – 1717-27; 11 – 1723-11

Fig. 2. Products of DNA amplification of samples of introgressive lines of wheat and triticale using molecular markers:

а – identification of the *Lr26/Sr31/Yr9* gene with the P6M12 marker; б – identification of the *Lr35/Sr39* genes with the *Sr39* marker; в – identification of the *Lr35/Sr39* genes with the BE500705 marker; г – identification of the *Lr34/Yr18/Sr57* genes with the *csLV34* marker; д – identification of the *Sr2* gene with the CsSr2 marker; е – identification of the *Sr36* gene with the marker *Xstm773-2*

М – molecular weight marker Step50; К+ – positive control; 1 – 1127-7; 2 – 1633-31; 3 – 1633-40; 4 – 1674-27; 5 – 1675-149; 6 – 1675-170; 7 – 1676; 8 – 1716-23; 9 – 1716-24; 10 – 1717-27; 11 – 1723-11

и тритикале проведен ПЦР-анализ с применением двух маркеров – *Sr39*, BE500705 (маркер на отсутствие гена). В качестве положительного контроля использована изогенная линия пшеницы *RL5711 Kerber* (с геном *Sr39*). Анализ с использованием доминантного SCAR-маркера *Sr39* показал, что амплификация ожидаемого фрагмента 900 п. н. произошла только у ДНК изогенной линии *RL5711 Kerber*, у всех остальных тестируемых линий она не зафиксирована (см. рис. 2, б). Маркер EST BE500705 является доминантным маркером, который идентифицирует единую полосу длиной 166 п. н.²³, также связанную с исходным сегментом пшеницы (восприимчивой аллелью). Поэтому этот маркер применяется для подтверждения отсутствия генов *Lr35/Sr39*. В ходе ПЦР-анализа установлено, что у всех диагностируемых образцов присутствует фрагмент длиной 290 п. н., но не 166 п. н. (см. рис. 2, в). Некоторыми авторами [9] используются фрагменты длиной именно 290 п. н., позволяющие идентифицировать отсутствие искомой аллели. Таким образом, на основании анализа с двумя маркерами сделан вывод об отсутствии искомым аллелей генов *Lr35/Sr39* в интрогрессивных линиях пшеницы и тритикале.

Проведена идентификация генов *Lr34/Yr18/Sr57/Pm38* с помощью маркера *csLV34*. В качестве положительного контрольного образца использована линия NIL-Thatcher-Lr34-PI58548 (RL6058). Установлено наличие ценных генов *Lr34/Yr18/Sr57/Pm38* у следующих образцов синтетической пшеницы: 1633-40, 1675-170, 1723-11, 2041-7 (см. рис. 2, г; таблицу).

Для идентификации носителей гена *Sr2*, гена устойчивости к стеблевой ржавчине, использован CAPS-маркер *CsSr2*, который был разработан на основе локуса *Sr2* и с высокой точностью обнаруживает три различных аллеля *Sr2*. В качестве положительного контроля применялась линия *Pavon 76*. ПЦР-анализ с использованием указанного маркера показал, что у 19 изучаемых образцов

амплификация отсутствовала (см. рис. 2, д; таблицу). По данным R. Mago et al. [8], была зафиксирована «нулевая аллель», не относящаяся к *Sr2*. У контрольной линии *Pavon 76* после амплификации проведено разрезание ферментом *BspHI* и зафиксированы три фрагмента (172, 112 и 53 п. н.), связанные с присутствием *Sr2*.

Идентификация гена устойчивости к стеблевой ржавчине *Sr36*, полученного от *Triticum timopheevii*, произведена с использованием маркера *Xstm773-2*. В качестве положительного контроля применялась изогенная линия с геном *Sr36W2691SrTt-1 C1 17385*. В процессе ПЦР-анализа всех изучаемых образцов установлено, что искомый фрагмент длиной 155 п. н. присутствует только у положительного контрольного образца (см. рис. 2, е).

Фитопатологическая оценка. Проведена оценка 17 интрогрессивных линий озимой пшеницы и двух линий тритикале на устойчивость к грибным болезням, в том числе бурой и желтой ржавчине. Проявление стеблевой ржавчины зафиксировано не было. По результатам оценки в полевых условиях в группу высокоустойчивых к бурой ржавчине (отсутствие симптомов поражения) вошли девять линий: 1127-7, 1675-170, 1676, 2005-13, 2041-13, 2046-1, KZ231, T-409-1, T-989-1 (см. таблицу). К группе устойчивых (поражение до 5%) отнесена одна линия (1633-40), у которой отмечен устойчивый тип реакции (R). Умеренной устойчивостью (поражение до 10%, тип реакции R) характеризовались два образца – 1633-31 и 1717-27. Умеренная восприимчивость (поражение 15–30%) выявлена у пяти линий: 1674-27, 1675-149, 1723-11, 2041-7, Век (тип реакции MR). Остальные два образца имели среднюю восприимчивость к бурой ржавчине, их пораженность составила 40–50%, тип реакции MS.

Все линий, кроме 1716-23 и Век, в полевых условиях показали высокую устойчивость к желтой ржавчине (отсутствие симптомов поражения).

Таким образом, в результате скрининга по определению устойчивости к бурой и

²³URL: <https://maswheat>

желтой ржавчине отмечены девять образцов (1127-7, 1675-170, 1676, 2005-13, 2041-13, 2046-1, KZ231, T-409-1, T-989-1), которые могут быть рекомендованы для использования в органическом земледелии.

Качество зерна и муки. Проведена оценка качества зерна интрогрессивных линий озимой пшеницы и озимого тритикале по натуре зерна, стекловидности, содержанию протеина, клейковины, качеству клейковины и седиментации.

Исследования 2020, 2021 гг. показали, что изучаемые образцы имели натуру в пределах 690–825 г/л. Большая часть коллекции по натуре зерна отнесена к классу сильных пшениц (не менее 750 г/л) (см. таблицу). Особо выделены образцы с высокой натурой зерна (≥ 800 г/л): 1674-27 (825 г/л), 1675-149 (815 г/л), 1675-170 (807 г/л).

По стекловидности зерна значения варьировали в пределах 63–83%, в связи с чем все интрогрессивные линии пшеницы отнесены к классу сильных пшениц ($\geq 60\%$) (см. таблицу).

Реальная ценность зерна во многом зависит от его белковости [10]. Суммарное количество белка в зерновке пшеницы (в среднем 12,0–14,0% массы зерна) и ее диких сородичей может колебаться в весьма широких пределах – от 9,8 до 30,2% и более в зависимости от генотипа и условий выращивания [11]. По содержанию белка выделяют семь классов мягкой пшеницы: сильная (отличная – 16,0%; хорошая – 15,0%; удовлетворительная – 14,0%), ценная (13,0%), филлер (хорошая – 12,0%; удовлетворительная – 11,0%) и слабая (8,0%). Интрогрессивные линии, полученные путем отдаленной гибридизации, имели очень высокое содержание белка – в пределах 13,6–19,0%. Из них девять соответствуют параметрам сильной пшеницы 1-го класса – отличные улучшители ($\geq 16,0\%$): 2041-13 (19,0%), 2005-13 (17,3%), 2041-7 (17,3%), 1716-24 (17,0%), 1675-149 (16,4%), 1127-7 (16,3%), 1633-31 (16,3%), 1717-27 (16,1%), KZ231 (16,0%) (см. таблицу).

Клейковина пшеничной муки представляет собой белковую массу, студень, который может, поглощая воду, набухать, уве-

личиваться в объеме, превращаться в упругое образование, способное растягиваться и пружинить, как резина. По содержанию клейковины выделяют семь классов пшеницы: сильная – улучшитель (отличная – 32,0%; хорошая – 30,0%; удовлетворительная – 28,0%), ценная (25,0%), филлер (хорошая – 24,0%; удовлетворительная – 22,0%), слабая (15,0%) [6].

Результаты оценки содержания клейковины в муке интрогрессивных линий озимой пшеницы и тритикале показали, что средние значения находятся в пределах 30,0–49,7% и все рассматриваемые линии соответствуют классу сильные пшеницы – отличные улучшители ($\geq 32,0\%$) (см. таблицу). Наиболее высокие значения отмечены у следующих линий: 1633-31 (49,4%), 2005-13 (49,6%), 2041-13 (49,0%), 2041-7 (49,3%), 1675-149 (47,7%), 1716-24 (47,0%), 1633-40 (47,0%).

Для оценки качества клейковины использовали принятое ранжирование (ед. ИДК): 45–75 – сильная; 40 и 85 – ценная; 35–20 и 90–100 – филлер; 105–120 – слабая. Качество клейковины у интрогрессивных линий варьирует в значительных пределах: от 80 до 120 ед. ИДК. Из интрогрессивных линий выделены линии 1127-7 (80,0 ед.) и KZ231 (82,5 ед.), показатели ИДК которых соответствуют классу ценной пшеницы. Линии 1675-170 (91,6 ед.), 1674-27 (92,5 ед.), 1717-27 (95,0 ед.), T-409-1 (95,0 ед.), 1716-24 (95,0 ед.) отнесены к филлерам (см. таблицу).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ПЦР-идентификация 17 интрогрессивных линий и сортов озимой пшеницы и 2 линий тритикале на обнаружение регуляторных элементов 35S и NOS, которые являются наиболее часто используемыми в генно-инженерных конструкциях, показала их отсутствие.

По результатам ДНК-идентификации на обнаружение эффективных генов бурой (*Lr*-), стеблевой (*Sr*-) и желтой (*Yr*-) ржавчины (*Lr*9, *Lr*26/*Sr*31/*Yr*9, *Lr*34/*Yr*18/*Sr*57, *Lr*35/*Sr*39, *Lr*34, *Sr*2, *Sr*36) из 19 интрогрессивных линий озимой пшеницы и тритикале выделены четыре образца (1633-40, 1675-170,

1723-11, 2041-7) с ценными генами *Lr34/Yr18/Sr57/Pm38* и один образец (1127-7), являющийся носителем генов *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8*.

На основании изучения 21 образца на предмет устойчивости к ржавчине на естественном фоне отмечено девять устойчивых к двум видам ржавчины (бурая и желтая) образцов с типом реакции R и отсутствием поражения (1127-7, 1675-170, 1676, 2005-13, 2041-13, 2046-1, KZ231, Т-409-1, Т-989-1).

Оценка интрогрессивных линий озимой пшеницы и озимого тритикале по параметрам качества зерна (натуре, стекловидности, содержанию протеина, клейковины, качеству клейковины и седиментации) позволила выделить два образца (1127-7, KZ231) с высокими показателями, соответствующими сильным пшеницам, а по качеству клейковины – ценным пшеницам.

По итогам комплексной оценки выделены две линии (1127-7, KZ231), отличающиеся значительной устойчивостью к двум видам ржавчины и высокими показателями качества зерна. Данные линии рекомендуются для использования в органическом земледелии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Таранова Ю.Т., Кинчаров А.И., Демина Е.А., Муллаянова О.С. Источники устойчивости к грибным заболеваниям для селекции яровой мягкой пшеницы // Аграрный научный журнал. 2020. № 12. С. 45–49. DOI: 10.28983/asj.y2020i12pp45-49.
2. Rsaliyev A.S., Rsaliyev S.S. Principal approaches and achievements in studying race composition of wheat stem rust // Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018. Vol. 22. N 8. P. 967–977. DOI: 10.18699/VJ18.439.
3. Shamanin V., Salina E., Wanyera R., Zelen-skiy Y., Olivera P., Morgounov A. Genetic diversity of spring wheat from Kazakhstan and Russia for resistance to stem rust Ug99 // Euphytica. 2016. Vol. 212. N 2. P. 287–296. DOI: 10.1007/s10681-016-1769-0.
4. Li A., Liu D., Yang W., Kishii M., Mao L. Synthetic Hexaploid Wheat: Yesterday, Today and Tomorrow // Engineering. 2018. Vol. 4. P. 552–558. DOI: 10.1016/j.eng.2018.07.001.
5. Abugaliyeva A.I., Savin T.V. The wheat introgressive form evaluation by grain biochemical

and technological properties // Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018. Vol. 22 (3). P. 353–362. DOI: 10.18699/VJ18.371.

6. Abugaliyeva A.I., Savin T.V., Kozhahmetov K.K., Morgounov A.I. Registration of wheat germ-plasm originating from wide crosses with superior agronomic performance and disease resistance // Journal of Plant Registrations this link is disabled. 2021. Vol. 15. N 1. P. 206–214. DOI: 10.1002/plr2.20105.
7. Mago R., Zhang P., Bariana H.S., Verlin D.C., Bansal U.K., Ellis J.G., Dundas I.S. Development of wheat lines carrying stem rust resistance gene *Sr39* with reduced *Aegilops speltoides* chromatin and simple PCR markers for marker-assisted selection // Theoretical and Applied Genetics. 2009. Vol. 119. P. 1441–1450. DOI: 10.1007/s00122-009-1146-7.
8. Mago R., Brown-Guedira G., Dreisigacker S., Breen J., Jin Y., Singh R., Appels R., Lagudah E.S., Ellis J., Spielmeier W. An accurate DNA marker assay for stem rust resistance gene *Sr2* in wheat // Theoretical and Applied Genetics. 2011. Vol. 122. P. 735–744. DOI: 10.1007/s00122-010-1482-7.
9. Gulyaeva E.I., Orina A.S., Gannibal Ph.B., Mitrofanova O.P., Odintsova I.G., Laikova L.I. The Effectiveness of Molecular Markers for the Identification of *Lr28*, *Lr35*, and *Lr47* Genes in Common Wheat // Russian Journal of Genetics. 2014. Vol. 50. N 2. P. 131–139. DOI: 10.1134/S1022795414020069.
10. Крупнов В.А., Крупнова О.В. Генетическая архитектура содержания белка в зерне пшеницы // Генетика. 2012. Т. 48. № 2. С. 149–159.
11. Mitrofanova O.P., Khakimova A.G. New genetic resources in wheat breeding for an increased grain protein content // Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2016. Vol. 20 (4). P. 545–554. DOI: 10.18699/VJ16.177.

REFERENCES

1. Taranova Yu.T., Kincharov A.I., Demina E.A., Mullayanova O.S. Sources of resistance to fungal diseases for the breeding of spring soft wheat. *Agrarnyy nauchnyy zhurnal = Agrarian scientific journal*, 2020, no. 12, pp. 45–49. (In Russian). DOI: 10.28983/asj.y2020i12pp45-49.
2. Rsaliyev A.S., Rsaliyev S.S. Principal approaches and achievements in studying race

- composition of wheat stem rust. *Vavilovskii zhurnal genetiki i selektsii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 2018, vol. 22, no. 8, pp. 967–977. DOI: 10.18699/VJ18.439.
3. Shamanin V., Salina E., Wanyera R., Zelenskiy Y., Olivera P., Morgounov A. Genetic diversity of spring wheat from Kazakhstan and Russia for resistance to stem rust Ug99. *Euphytica*, 2016, vol. 212, no. 2, pp. 287–296. DOI: 10.1007/s10681-016-1769-0.
 4. Li A., Liu D., Yang W., Kishii M., Mao L. Synthetic Hexaploid Wheat: Yesterday, Today and Tomorrow. *Engineering*, 2018, vol. 4, pp. 552–558. DOI: 10.1016/j.eng.2018.07.001.
 5. Abugaliyeva A.I., Savin T.V. The wheat introgressive form evaluation by grain biochemical and technological properties. *Vavilovskii zhurnal genetiki i selektsii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 2018, vol. 22 (3), pp. 353–362. DOI: 10.18699/VJ18.371.
 6. Abugaliyeva A.I., Savin T.V., Kozhakhmetov K.K., Morgounov A.I. Registration of wheat germplasm originating from wide crosses with superior agronomic performance and disease resistance. *Journal of Plant Registrations this link is disabled*, 2021, vol. 15, no. 1, pp. 206–214. DOI: 10.1002/plr2.20105.
 7. Mago R., Zhang P., Bariana H.S., Verlin D.C., Bansal U.K., Ellis J.G., Dundas I.S. Development of wheat lines carrying stem rust resistance gene *Sr39* with reduced *Aegilops speltoides* chromatin and simple PCR markers for marker-assisted selection. *Theoretical and Applied Genetics*, 2009, vol. 119, pp. 1441–1450. DOI: 10.1007/s00122-009-1146-7.
 8. Mago R., Brown-Guedira G., Dreisigacker S., Breen J., Jin Y., Singh R., Appels R., Lagudah E.S., Ellis J., Spielmeier W. An accurate DNA marker assay for stem rust resistance gene *Sr2* in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 2011, vol. 122, pp. 735–744. DOI: 10.1007/s00122-010-1482-7.
 9. Gulyaeva E.I., Orina A.S., Gannibal Ph.B., Mitrofanova O.P., Odintsova I.G., Laikova L.I. The Effectiveness of Molecular Markers for the Identification of *Lr28*, *Lr35*, and *Lr47* Genes in Common Wheat. *Russian Journal of Genetics*, 2014, vol. 50, no. 2, pp. 131–139. DOI: 10.1134/S1022795414020069.
 10. Krupnov V.A., Krupnova O.V. Genetic architecture of protein content in wheat grain. *Genetika* = *Russian Journal of Genetics*, 2012, vol. 48, no. 2, pp. 149–159. (In Russian).
 11. Mitrofanova O.P., Khakimova A.G. New genetic resources in wheat breeding for an increased grain protein content. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 2016, vol. 20 (4), pp. 545–554. DOI: 10.18699/VJ16.177.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

✉ **Ержебаева Р.С.**, кандидат биологических наук, заведующая лабораторией; **адрес для переписки:** Республика Казахстан, 040909, Алматинская область, пос. Алмалыбак, ул. Ерлепесова, 1; e-mail: raushan_2008@mail.ru

Абекова А.М., кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник

Базылова Т.А., научный сотрудник

Масимгазиева А.С., магистр естественных наук, научный сотрудник

Мереева Т.Д., старший лаборант

Кожакметов К., доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник

Бастаубаева Ш.О., председатель Правления

Слямова Н.Д., кандидат сельскохозяйственных наук, заведующая лабораторией

AUTHOR INFORMATION

✉ **Raushan S. Yerzhebayeva**, Candidate of Science in Biology, Laboratory Head; **address:** 1, Yerlepesov St., Almalybak, Almaty region, 040909, Republic of Kazakhstan; e-mail: raushan_2008@mail.ru

Alfiya M. Abekova, Candidate of Science in Agriculture, Lead Researcher

Tamara A. Bazylova, Researcher

Aigerim S. Massimgaziyeva, Master of Science, Researcher

Tolkyn D. Mereyeva, Senior Assistant

Kenebay Kozhakhmetov, Doctor of Science in Biology, Lead Researcher

Sholpan O. Bastaubayeva, Board Chairman

Nazira D. Slyamova, Candidate of Science in Agriculture, Laboratory Head

Дата поступления статьи / Received by the editors 20.07.2022
Дата принятия к публикации / Accepted for publication 09.09.2022
Дата публикации / Published 20.03.2023