PI 466423. Theor Appl Genet. 2016;129:1831–42.

10. Roy JK, Smith KP, Muehlbauer GJ, Chao S, Close TJ, Steffenson BJ. Association mapping of spot blotch resistance in wild barley. Mol Breeding. 2010;26:243–56.

11. Zhou H, Steffenson BJ. Genome-wide association mapping reveals genetic architecture of durable spot blotch resistance in US barley breeding germplasm. Mol Breed. 2013;32:139–54.

12. Berger GL, Liu S, Hall MD, Brooks WS, Chao S, Muehlbauer GJ, Baik BK, Steffenson B, Griffey CA. Marker-trait associations in Virginia Tech winter barley identified using genome-wide mapping. Theor Appl Genet. 2013;126:693–710.

13. Gutiérrez L, Berberian N, Capettini F, Falcioni E, Fros D, Germán S, Hayes PM, Huerta-Espino J, Herrera S, Pereyra S, Pérez C, Sandoval-Islas S, Singh R, Castro A. Genome-wide association mapping identifies disease-resistance QTLs in barley germplasm from Latin America. In: Zhang G, Li C, Liu X, editors. Advance in barley sciences. Proceedings of 11th international barley genetics symposium; 2013. p. 209–15.

14. Wang R, Leng Y, Ali S, Wang M, Zhong S. Genome-wide association mapping of spot blotch resistance to three different pathotypes of *Cochliobolus sativus* in the USDA barley core collection. Mol Breed. 2017;37:44.

15. Bykova I.V., Lashina N.M., Efimov V.M., Afanasenko O.S., Khlestkina, E.K. Identification of 50 K Illumina-chip SNPs associated with resistance to spot blotch in barley. BMC plant biology, 2017;17(2):250.

16. Kutcher H.R., Bailey K.L., Rossmagel B.G., Legge W.G. Heritability of common root rot and spot blotch resistance in barley. Canadian journal of plant pathology, 1994;16(4):287-294.

17. Almgren I., Gustafsson M., Lindgren H., Liljeroth E. Interaction between root and leaf disease development in barley cultivars after inoculation with different isolates of *Bipolaris sorokiniana*. Journal of Phytopathology, 1999;147(6):331-337.

DOI 10.18699/GPB2020-64

Молекулярно-генетический полиморфизм возбудителя листовой ржавчины на твердой пшенице в Казахстане

Рсалиев А.С.^{1*}, к.с.-х.н., зав. лаб.; Шайдаюк Е.Л.², м.н.с.; Кохметова А.М.³, д.б.н., зав. лаб.; Гультияева Е.И.², д.б.н., в.н.с.

¹Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Гвардейский, Казахстан;

²Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Россия;

³Институт биологии и биотехнологии растений, Алматы, Казахстан,

*e-mail: aralbek@mail.ru

*Изучена вирулентность и полиморфизм микросателлитных локусов у изолятов *Russinia triticipina*, выделенных с яровой твердой пшеницы, выращиваемой в Южном Казахстане в 2018 и 2019 гг. Выявлены различия в виру-*

лентности между изолятами из Северного Казахстана и проанализированными в настоящей работе. Сходство между северо-казахстанскими и южно-казахстанскими популяциями по микросателлитным локусам было существенно выше ($Nei_d=0,013$; $Fst=0.03$). Показано существование единой популяции возбудителя листовой ржавчины на твердой пшенице в Казахстане.

Ключевые слова: *Puccinia triticina*, *Triticum durum*, вирулентность, микросателлитные маркеры.

Molecular genetic polymorphism of leaf rust pathogen on durum wheat in Kazakhstan

Rsaliev A.S.¹, Shaydayuk E.L.², Kokhmetova A.M.³, Gulyaeva E.I.²

¹Research Institute for Biological Safety Problems, Gvardeiskiy, Zhambylskaya Oblast, Kazakhstan; ²All-Russian Institute of Plant Protection, Saint-Petersburg, Russia; ³Institute of Plant Biology and Biotechnology, Almaty, Kazakhstan

The isolates of *Puccinia triticina* isolated from spring durum wheat grown in 2018 and 2019 years in Southern Kazakhstan region were studied for virulence and polymorphism of microsatellite loci. Diversity of virulence within Northern Kazakhstan isolates were evolved and analysed in this study. Similarity between the Northern Kazakhstan and Southern Kazakhstan population by microsatellite loci were higher ($Nei_d=0.013$; $Fst=0.03$). Single population of leaf rust pathogen on durum wheat was revealed in Kazakhstan.

Key words: *Puccinia triticina*, *Triticum durum*, virulence, microsatellite markers.

Листовая ржавчина, вызываемая биотрофным грибом *Puccinia triticina* Erikss. – распространенное и значимое заболевание твердой пшеницы (*Triticum durum* Desf) [1]. Во всем мире одной из причин массового развития этой болезни является возделывание восприимчивых сортов пшеницы и появление новых вирулентных рас гриба. Следовательно, в 2001 году в штате Мексика Сонора появилась новая раса листовой ржавчины, которая отличалась высокой вирулентностью к сортам твердой пшеницы. В результате эпифитотии данной расы многие сорта твердой пшеницы в течение двух-трех лет потеряли устойчивость к листовой ржавчине [2]. Позже, в 2003 году раса *P. triticina* появилась на посевах твердой пшеницы юге Калифорнии (США), молекулярное исследование которой показало ее идентичность с расой из Мексика [2]. Недавно охарактеризованы вирулентности популяций *P. triticina* на твердой пшенице в России. Проведенный анализ выявил существенные различия в составе патогена на твердой пшенице по сравнению с ранее изученными популяциями патогена на мягкой пшенице, в частности изоляты с твердой пшеницы имели достоверно меньшее число аллелей вирулентности [4].

В Казахстане наиболее значимые популяционные исследования листовой ржавчины на твердой пшенице были выполнены в 2005–2007 гг. В указанный период проанализировано 98 монопустульных изолята гриба, из них идентифицировано 12 рас *P. triticina*. Гены устойчивости *Lr9*, *Lr19*, *Lr23*, *Lr24* и *Lr25* были устойчивыми ко всем расам, выделенных с сортов твердой пшеницы [5]. Однако в республике очень слабое внимание уделяется генотипированию изолятов *P. triticina* с использованием молекулярных маркеров. Ограниченные исследования по изучению вирулентности и молекулярного полиморфизма были выполнены в 2014 году в Северном Казахстане. В этих исследованиях было проведено сравнение образцов популяций *P. triticina* на твердой и мягкой пшенице. Выявлено существенное отличие в составе популяций *P. triticina* на твердой и мягкой пшенице по вирулентности и фенотипическому составу в Северном Казахстане [6].

Целью данной работы являлось изучение популяций *P. triticina*, собранных на твердой пшенице в Южном Казахстане, по вирулентности и SSR-маркерам.

Для выполнения экспериментов были использованы образцы листьев твердой пшеницы, пораженных листовой ржавчиной, собранные во время фитосанитарного мониторинга из южных регионов Казахстана в 2018–2019 гг. Анализ вирулентности *P. triticina* проводили с использованием 37 изогенных линий Thatcher и сортов с *Lr* генами устойчивости. Выделение и размножение монопустульных изолятов осуществили с использованием 10–14-дневных проростков восприимчивых сортов твердой и мягкой пшеницы. В отдельных случаях для получения монопустульных изолятов использовали методику отрезков листьев [7]. Учет типа реакции проводили через 10–12 дней после заражения по шкале Е.В. Mains и Н.С. Jackson [8]. Определение фенотипов проводили с использованием 20 *TcLr*-линий [9, 10]. Выделение ДНК из спорового материала гриба проводили согласно методике Justesen et al. [11]. Для деструкции спор использовали гомогенизатор FastPrep®-24. В молекулярных исследованиях использовали 11 SSR-маркеров: PtSSR13, PtSSR50, PtSSR55, PtSSR61, PtSSR68, PtSSR91, PtSSR92, PtSSR151A, PtSSR152, PtSSR158, RB8, RB26) [12, 13].

Амплификацию проводили с использованием термоциклера C1000 BioRad. Генетический анализатор ABI Prism 3500 XL (ABI-Hitachi, Япония) использовали для проведения SSR анализа. Определение размера аллелей проводили с использованием программы STR and Analysis Software.

В 2018–2019 гг. изучена вирулентность 30 изолятов *P. triticina*. Все изоляты были авирулентными к линиям с генами *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr2c*, *Lr9*, *Lr15*, *Lr16*, *Lr17*, *Lr19*, *Lr24*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr41*, *Lr45*, *Lr47*, *Lr51*, *Lr52*, *Lr53* и вирулентными к *Lr1*, *Lr3a*, *Lr3bg*, *Lr3ka*, *Lr11*, *Lr14a*, *Lr14b*, *Lr18*, *Lr23*, *Lr26*, *Lr30*, *Lr32*, *Lr33*, *Lr34*, *Lr48*, *Lr49*, *Lr64*. Варьирование по вирулентности от-

мечено на линиях TcLr20 и TcLr44. Два фенотипа MCRKG и MCRKH определены в казахстанской популяции *P. triticina*. Среднее число аллелей вирулентности в изученных образцах популяции составило 10,4. Значения индексов внутривидового разнообразия (Нея, Шеннона, Космана) для казахстанской популяции на *T. durum* были низкими ($H_s=0,02$; $H_h=0,22$; $H_{bm}=0,04$), и указывали на низкий полиморфизм.

Разнообразие казахстанской популяции по микросателлитным локусам было существенно выше. В ней выявлено 4 SSR генотипа (с частотой 50 %, 25 %, 12 %, 12 %, соответственно). Среднее число аллелей на локус (Na) составило 1,3; число эффективных аллелей – 1,2; Индекс Шеннона (I) – 0.19. Уровень наблюдаемой гетерозиготности был выше уровня ожидаемой, что подтверждается отрицательными значениями индекса фиксации.

В данных исследованиях выявлены различия в вирулентности между изолятами из Северного Казахстана (2014 г.) [6] и проанализированными в настоящей работе. Различия могли быть вызваны использованием разных методик при проведении анализа вирулентности. В 2014 году был использован метод отрезков листьев [7], а в 2018–2019 гг. более точный метод инокуляции живых растений.

Сходство между северо-казахстанскими и южно-казахстанскими популяциями по микросателлитным локусам было существенно выше ($Nei_d=0,013$; $F_{st}=0.03$). Общие SSR генотипы выявлены в обеих популяциях, что указывает на генный поток между этими популяциями. Высокое сходство между северо- и южно-казахстанскими изолятами указывает на существование единой популяции *P. triticina* на твердой пшенице в Казахстане.

Благодарности: Данные исследования частично поддержаны Министерством сельского хозяйства Республики Казахстан в рамках программно-целевого финансирования на 2018–2020 гг. (ИРН BR0649329).

Список литературы

1. Gulyaeva E. Evaluation of resistance of spring durum wheat germplasm from Russia and Kazakhstan to fungal foliar pathogens / E. Gulyaeva, V. Yusov, M. Rosova, P. Malchikov, E. Shayayuk, N. Kovalenko, R. Wanyera, A. Morgounov, G. Yskakova, A. Rsaliyev // Cereal research communications, 2020. <https://doi.org/10.1007/s42976-019-00009-9>
2. Singh R.P. Occurrence and impact of a new leaf rust race on durum wheat in north-western Mexico from 2001 to 2003 / R.P. Singh, J. Huerta-Espino, W. Pfeiffer, P. Figueroa-Lopes // Plant Diseases, 2004. – V. 88. – P. 703–708.
3. Ordonez M. Genetic diversity of a world-wide collection of *Puccinia triticiana* from durum wheat using simple sequence repeat markers and rdna sequence. (Abstr.) / M. Ordonez, J. Kolmer, L. Szabo // Phytopathology. – 2005. – V. 95. – P. 78.
4. Шайдаюк Е.Л. Характеристика вирулентности возбудителя бурой ржавчины на сортах озимой твердой пшеницы в условиях Ростовской области / Е.Л. Шайдаюк, Е.И. Гульяева, Н.В. Шишкин, Т.Г. Дерова, Д.Р. Яковлева, Н.П. Иличкина // Зерновое хозяйство России, 2019. № 1 (61). – С. 56–61.
5. Рсалиев А.С. Устойчивость сортообразцов яровой твердой пшеницы (*Triticum*

durum Desf) к ржавчинным болезням. // Автореферат канд. с.-х. наук. – Алма-Ата: Казахский НИИ земледелия и растениеводства, 2009. – 26 с.

6. Гулятьева, Е.И. Структура популяций *Puccinia triticina* Erikss. на мягкой и твердой пшенице / Е.И. Гулятьева, А.К. Ахметова, Е.Л. Шайдаюк, М.К. Аристова // Земледелие и селекция сельскохозяйственных растений на современном этапе. Сборник докладов международной научно-практической конференции, посвященной 60-летию НПП зернового хозяйства им. А.И. Бараева, 2016 – С. 309–313.

7. Михайлова Л.А. Методы исследований структуры популяции возбудителя бурой ржавчины пшеницы / Л.А. Михайлова, Е.И. Гулятьева, Н.В. МIRONENKO // Сборник методических рекомендаций по защите растений. – Санкт-Петербург: ВИЗР, 1998. – С. 105–126.

8. Mains, E.B. Physiologic specialization in the leaf rust of wheat; *Puccinia triticina* Erikss. / E.B. Mains, H.S. Jackson // Phytopathol. – 1926. – V.16. – P. 89–120.

9. Long, D.L. A North American system of nomenclature for *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* / D.L. Long, J.A. Kolmer // Phytopathology. – 1989. – V. 79(5). – P. 525–529.

10. Гулятьева Е.И. Генетическая дифференциация *Puccinia triticina* Erikss. по микросателлитным локусам на территории России / Е.И. Гулятьева, М.К. Аристова, Е.Л. Шайдаюк, Н.В. МIRONENKO, И.А. Казарцев, А. Ахметова, Е. Косман // Генетика. 2017. № 9. – С. 1053–1060.

11. Justesen, A.F. The recent history of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in Denmark as revealed by disease incidence and AFLP markers / A.F. Justesen, C.J. Ridout, M.S. Hovmøller // Plant Pathology. – 2002. – V. 51 (1). – P. 13–23.

12. Szabo, L. S. Development of simple sequence repeat markers for the plant pathogenic rust fungus *Puccinia triticina* / L.S. Szabo, J.A. Kolmer // Mol.Ecol. Notes. – 2007. – V. 7 (4). – P. 708–710.

13. Duan, X. Isolation of 12 microsatellite loci, using an enrichment protocol, in the phytopathogenic fungus *Puccinia triticina* / X. Duan, J. Enjalbert, D. Vautrin, C. Solignac, T. Giraud // Mol. Ecol. Notes. – 2013. – V. 3 (1). – P. 65–67.

DOI 10.18699/GPB2020-65

Оценка цитогенетической стабильности гибридных растений хлопчатника и их беккроссных потомств с замещениями отдельных хромосом

Санамьян М.Ф. *, д.б.н., г.н.с. лаб. генетики хлопчатника; Бобохужаев Ш.У., докторант.

Национальный университет Узбекистана, Ташкент, Узбекистан.

*e-mail: sanat_marina@rambler.ru

Изучали мейоз на стадии метафаза I и спорад у гибридных анеуплоидов хлопчатника с замещением отдельных хромосом или их плеч. Выявили невысокий уровень нарушений в мейозе. Беккроссирование анеуплоидных гибридов с исходными линиями привело к снижению мейотического индекса и