

**Я.В. Пірко¹, А.В. Карелов^{1,2}, Н.О. Козуб^{1,2},
І.О. Созінов², Н.М. Пірко¹, А.І. Ємець¹, В.І. Корховий¹,
В.Т. Колючий³, Я.Б. Блюм¹, О.О. Созінов¹**

¹ Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, Київ

² Інститут захисту рослин НААН України, Київ

³ Миронівський інститут пшениці імені В.М. Ремесла НААН України, Київська обл.

ВПРОВАДЖЕННЯ МЕТОДІВ, ЩО БАЗУЮТЬСЯ НА ПРОВЕДЕННІ ПОЛІМЕРАЗНОЇ ЛАНЦЮГОВОЇ РЕАКЦІЇ, ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ ГЕНІВ СТІЙКОСТІ ДО БУРОЇ ІРЖІ У ПШЕНИЦІ



Впроваджено молекулярно-генетичні методи виявлення гена стійкості до бурої іржі (*Puccinia triticina*) – Lr34, який відповідає за родову неспецифічну резистентність пшениці до цього патогена. Для визначення алельного стану локусу Lr34 за допомогою полімеразної ланцюгової реакції з використанням кодомінантного маркера *cssr5* проаналізовано 30 сортів пшениці селекції Миронівського інституту пшениці ім. В.М. Ремесла НААН України та Інституту фізіології рослин і генетики НАН України. Встановлено, що серед досліджених сортів відсоток таких, що містять алель Lr34(+), який надає стійкості до бурої іржі, становить 16,7 %. Отримані результати передані до Миронівського інституту пшениці для використання у селекційному процесі.

Ключові слова: пшениця, бура іржа (*Puccinia triticina*), стійкість до бурої іржі, локус Lr34, полімеразна ланцюгова реакція.

АКТУАЛЬНІСТЬ ПРОБЛЕМИ

Пшениця є найважливішою продовольчою і кормовою культурою у світі, тому вона займає провідне місце в посівних площах. Подальше збільшення виробництва зерна пшениці можливе, головним чином, за рахунок збільшення її врожайності та зниження втрат, пов'язаних, у першу чергу, із захворюваннями цієї культури. На сьогоднішній день втрати врожаю нестійких до небезпечних патогенів сортів пшениці досягають в роки епіфітотій до 60 %. При впровадженні інтенсивних технологій вирощування

як пшениці, так і зернових культур у цілому через поганий мікроклімат у посівах різко зростає шкодочинність листостеблових патогенів.

Одним із основних патогенів, що значно зменшують урожай пшениці, є гриби роду *Puccinia*, до яких відноситься бура (або листовая) іржа (*Puccinia triticina*) [1, 2]. Відомо, що під час епіфітотій іржі втрати врожаїв пшениці за даними FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nation, www.fao.org) можуть сягати 30 %. Основним методом боротьби з бурою іржею є створення стійких сортів пшениці, що успадковують гени стійкості до цього захворювання. Більшість генів, що обумовлюють родоспецифічну резистентність до іржі та інших шкідливих грибів, забезпечують ефектив-

ну стійкість лише протягом декількох років, поки не відбудеться адаптація патогена. Саме тому створення нових сортів пшениці зі стійкістю до бурої іржі є одним із першочергових завдань селекціонерів. Таким чином, заміна сортів пшениці, які стають чутливими до цього патогена, повинна здійснюватися на нові сорти з іншими генами резистентності.

На відміну від більшості генів, що забезпечують родоспецифічну резистентність до іржі й інших шкідливих грибів (так звані *R*-гени), яка зберігається лише протягом декількох років, ген *Lr34*, що дає «дорослу» (adult plant resistance, APR) родову неспецифічну часткову резистентність до бурої іржі, зберігає свою ефективність протягом багатьох сезонів [3]. Вперше цей ген було описано ще у 1977 р. [4]. Пізніше тим же автором було визначено його локалізацію у хромосомі 7D [5]. Результати подальших досліджень вказали на більш точне місце розташування *Lr34* – хромосома 7DS [6]. Вважають, що цей локус, як і D-геном пшениці загалом, походить від *Aegilops tauschii* Coss [7]. Крім того, було виявлено, що ген *Lr34* є генетично невід’ємним від гена дорослої ре-

зистентності (APR) *Yr18*, що надає помірну резистентність до полосатої або жовтої іржі (*P. striiformis* Westend. f. sp. *tritici*) [8]. Також була виявлена коасоціація цього гена із геном стійкості до борошнистої роси (*Blumeria graminis* (DC.) E.O. Speer f. sp. *tritici*) *Pm38* [9]. Локус також асоціюється зі стійкістю до жовтої карликовості ячменю *Bdv1* [10].

Після того як ген *Lr34* був ізольований, було запропоновано, що асоційована з ним резистентність обумовлена тим, що він кодує (PDR)-подібний АТФ-зв’язуючий контейнерний (ABC)-транспортер [11]. Нуклеотидна послідовність *Lr34* має довжину 11,805 п.н. і містить 24 екзони [12]. Встановлено близьке генетичне зчеплення гена *Lr34* з мікросателітними маркерами (*Xgwm130*, *Xgwm295*, *Xgwm1220*) [13] та сайт-специфічними маркерами (CDO475, BF473324 й BE493812) [14, 15, 16]. Серед мікросателітних маркерів для ідентифікації локусу *Lr34* часто використовують маркер *Xgwm295*; для його детекції була розроблена пара праймерів (табл. 1) [17].

Маркери *SWM1*, *SWM5* та *SWM10*, місця локалізації яких було визначено на хромосомі 7D, також близько зчеплені з геном *Lr34* [12].

Таблиця 1

Молекулярно-генетичні маркери гена стійкості до бурої іржі *Lr34* та праймери, що використовуються для їх ідентифікації за допомогою ПЛР

Маркери	Праймери	Довжина ампліконів (п.н.)	Література
<i>csLV34</i>	F: csLV34F–5’GTTGGTTAAGACTGGTGATGG3’; R: csLV34R–5’TGCTTGCTATTGCTGAATAGT3’	(+)150 (–)229	[11]
<i>Xgwm295</i>	F: WMS295–5’GTGAAGCAGACCCACAACAC3’, R: WMS295–5’GACGGCTGCCGACGTAGAG3’	(+)254	[17]
<i>SWM10</i>	F: 5’GCCTACTTTGACGGCATATGG3’ R: 5’CCATCTTGACATACTTTGGCCTTCC3’	(+)211	[18]
<i>cssfr5</i>	F: L34SPF–5’GGGAGCATTATTTTTTCCATCATG3’; R: L34DINT13R–5’ACTTTCCTGAAAATAATACAAGCA3’ F: L34DINT9F–’TTGATGAAACCAGTTTTTTTTCTA3’; R: L34MINUSR–TATGCCATTTAACATAATCATGAA3’	(+)751 (–)523	[19]
<i>cssfr6</i>	F: <i>cssfr6_f</i> –5’GCGTATTGTAATGTATCGTGAGAG3’; R: <i>cssfr6_r</i> –5’CATAGGAATTTGTGTGCTGTCC3’	Після дії рестриктази Fnu4HI: (+)63, 135, 451 (–)63, 589	

Примітка: (+) – «стійкі», (–) – «чутливі» до бурої іржі сорти

Серед перерахованих маркерів одним із найбільш цінних для визначення гена стійкості *Lr34* є локус *SWM10* [11, 12, 18]. Для ідентифікації цього маркера була запропонована пара праймерів, яка достатньо точно визначає його наявність (див. табл. 1). Однак той факт, що локус *SWM10* не входить до складу локусу *Lr34*, є причиною недостатньої достовірності цього маркера [18]. Інший маркер, що може використовуватися для детекції гена *Lr34*, — це *csLV34* (див. табл. 1). Встановлено достатньо високу ступінь зчеплення цього маркера із геном стійкості *Lr34* [11, 12]. Крім того, ген *Lr34* характеризується близьким зчепленням з маркерами *csLVMS*, *csLVE17* і *SWSNP3*. Мікросателітний маркер *SWSNP3* показав один і той самий алель із *SWM10* у трьох незалежних джерелах гена *Lr34*: в сортах *Frontana*, *Chinese Spring* й *Forno*, так само, як і у багатьох інших сортах, що містять цей ген [9].

У подальшому було встановлено, що наявність гена *Lr34* ще не гарантує стійкості того чи іншого сорту до бурої іржі. Важливо знати ще й алельний стан цього гена. Виявлено, що локус *Lr34* може бути присутній у двох алельних станах: *Lr34(+)* — алель, який надає сортам стійкість до бурої іржі і, відповідно, *Lr34(-)* — алель, характерний для «чутливих» сортів. Враховуючи цю обставину, було розроблено кодомінантний маркер для визначення не тільки наявності, але й алельного стану гена *Lr34* — *cssfr5* [19]. Він базується на детекції двох подій: делеції довжиною 3 пари нуклеотидів (п.н.) в екзоні 11 та однонуклеотидного поліморфізму (SNP) в екзоні 12 гена *Lr34*. Для цього було запропоновано дві пари праймерів: *L34DINT9F/L34MINUSR* та *L34SPF/L34DINT13R2* (див. табл. 1). За допомогою першої пари праймерів здійснюється ампліфікація ділянки екзону 11, характерної для *Lr34(-)*. За допомогою другої пари праймерів проводиться ампліфікація маркерної ділянки екзону 11 з делецією, інтрона між 11-м й 12-м екзонами та ділянки генома з SNP, що міститься в 12-му екзоні [19].

SNP, знайдений в екзоні 12, забезпечує місце приєднання ендонуклеази *Fnu4HI* і може

використовуватись як кодомінантний специфічний маркер до гена *Lr34(-)*. Ендонуклеаза *Fnu4HI* (5'GCNGC3') розрізає послідовності ДНК рослин, що містять алелі резистентності, але не алелі чутливості. Цей поліморфізм у сайті рестрикції може бути використаний для визначення алельного стану *Lr34*. На його основі був розроблений маркер, названий *cssfr6* (див. табл. 1). За допомогою пари праймерів *cssfr6_f/cssfr6_r* ампліфікується фрагмент довжиною 652 п.н. для *Lr34(-)* і 649 п.н. — для *Lr34(+)*. Наступне розрізання ампліфікованих фрагментів рестриктазою *Fnu4HI* дає в результаті розщеплення амплікона довжиною 649 п.н. три фрагменти довжиною 63, 135 й 451 п.н. для *Lr34(+)* гаплотипу. Амплікон довжиною 652 п.н. з чутливого гаплотипу розщеплювався лише на два фрагменти довжиною 63 й 589 п.н. [19].

Таким чином, на сьогодні до найбільш вживаних систем, які можуть бути використані для виявлення гена *Lr34*, можна віднести перераховані у табл. 1 маркерні системи. Серед них слід відмітити маркер *cssfr5*, який дозволяє встановити не тільки наявність самого гена, але й визначити його алельний стан. Відповідно сорти, в яких за допомогою цього молекулярно-генетичного маркера виявляється алель *Lr34(+)*, потенційно стійкі до патогена і можуть бути використані як вихідний матеріал у селекційному процесі по створенню нових сортів пшениці, стійких до бурої іржі.

Метою даної роботи, виконаної у рамках науково-технічного інноваційного проекту «Впровадження методів, що базуються на проведенні полімеразної ланцюгової реакції, для виявлення генів стійкості до бурої іржі у пшениці» (№ Держреєстрації 0110U003338), є ідентифікація сортів озимої м'якої пшениці української селекції, стійких до бурої іржі, за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) для їх подальшого використання у селекційному процесі.

МЕТОДИЧНІ ОСНОВИ РОЗРОБКИ

Для виявлення сортів пшениці, стійких до бурої іржі, досліджували сорти озимої м'якої

пшениці, створені у Миронівському інституті пшениці імені В.М. Ремесла НААН України та Інституті фізіології рослин і генетики НАН України (повний перелік сортів наведено у табл. 2). Як контроль використовували сорти Thatcher *Lr34(+)* (RL6058) (позитивний контроль) та Thatcher *Lr34(-)* (негативний контроль).

Виділення ДНК. Виділення та очистку ДНК проводили за стандартним протоколом (http://molbiol.ru/protocol/14_05.html) з незначними модифікаціями [20]. ДНК ізолювали з 3–5-денних проростків пшениці. Рослинний матеріал розтирали в керамічних ступках з рідким азотом. Для екстракції ДНК використовували буфер на основі броміду цетилтриметиламонію (ЦТАБ): 2%-й ЦТАБ, 1,4 М NaCl, 0,1 М Трис-HCl, рН 8,0, 20 мМ ЕДТА.

Проведення ПЛР. Визначення алельного стану гена *Lr34* у досліджуваному генетичному матеріалі проводили за допомогою мультиплексної ПЛР з використанням кодомінантного маркера *cssfr5*. Реакцію проводили з такими праймерами [19]:

L34DINT9F (5'TTGATGAAACCAGTTTTTTTТТТСТА3');

L34MINUSR (5'TATGCCATTТААСАТААТ С АТGAA3');

L34SPF (5'GGGAGCATТАТТТТТТТТССАТ САТG3');

L34DINT13R2 (5'ACTTTCCTGAAAATAАТ АСАAGCA3').

Всі праймери були синтезовані у Центрі колективного користування приладами Державної установи «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України» на синтезаторі 3400 DNA Synthesizer (Applied Biosystems, США). Вихідні концентрації праймерів були такі: L34DINT9F – 20,5 нМ; L34MINUSR – 30,9 нМ; L34SPF – 34 нМ; L34DINT13R2 – 18,3 нМ. У *Lr34(-)* гаплотипів пшениці здійснювалась ампліфікація фрагмента довжиною 523 п.н., а у *Lr34(+)* гаплотипів – фрагмента довжиною 751 п.н. [19].

Для проведення ПЛР використовували *Taq* ДНК-полімерази з активністю 1000 од. (Fer-

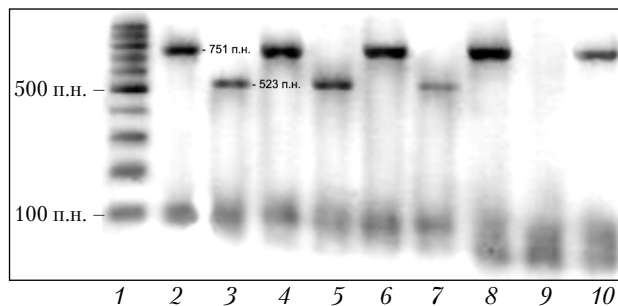
mentas, Литва), всі інші реактиви – компанії «Хелікон» (Helicon), Росія. На один зразок об'ємом 25 мкл брали 2 мкл ДНК (50 нг), 2,5 мкл 10x ПЛР-буфера з MgCl₂ та KCl, по 0,5 мкл L34SPF і L34MINUSR праймерів, по 1 мкл L34DINT9F і L34DINT13R2 праймерів, 0,5 мкл дНТФ (із розрахунку кінцевої концентрації 25 мМ) та 0,5 мкл ДНК-полімерази. Для ініціації ампліфікації здійснювали початкову денатурацію ДНК при 94 °С протягом 3 хв з подальшим проведенням 50 циклів у режимі: денатурація – 94 °С протягом 30 с, віддіал праймерів – 55 °С протягом 30 с, елонгація – 72 °С протягом 45 с, заключна елонгація – 72 °С протягом 4 хв.

Продукти, отримані в результаті ПЛР, аналізували за допомогою електрофорезу у 1,8%-му агарозному гелі. Як інтеркалюючий агент для візуалізації ДНК в ультрафіолеті використовували бромистий етидид.

ВИЯВЛЕННЯ ГЕНІВ СТІЙКОСТІ ДО БУРОЇ ІРЖІ (*Lr34*) У ПШЕНИЦІ ЗА ДОПОМОГОЮ ПЛР

У ході виконання проекту було проаналізовано 30 сортів озимої м'якої пшениці української селекції, наданих Миронівським інститутом пшениці імені В.М. Ремесла НААН України. На рисунку наведено електрофореграму з результатами ампліфікації фрагментів ДНК деяких проаналізованих сортів пшениці. Як і очікувалось, сорти, що містять алель *Lr34(+)*, тобто потенційно стійкі до бурої іржі, мали амплікон довжиною 751 п.н., а ті, що містять алель *Lr34(-)*, утворювали під час ампліфікації амплікони довжиною 523 п.н. Повний перелік проаналізованих сортів та інформація про алельний стан гена *Lr34* наведені в табл. 2.

Із даних, наведених у табл. 2, випливає, що чотири сорти із усіх досліджених – Деметра, Сніжана, Веста та Святкова – містять алель *Lr34(+)*. На підставі отриманих результатів також слід відмітити, що в сорті «Миронівська 30» виявлено поліморфізм за локусом *Lr34*, що може свідчити про його гетерогенність (див. табл. 2). Раніше вже робилися поодинокі спроби аналізу невеликої вибірки сортів пше-



Результати ампліфікації фрагментів ДНК деяких з проаналізованих сортів пшениці: 1 – молекулярний маркер (O'GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder); 2 – Thatcher *Lr34*(+) (RL6058); 3 – Thatcher *Lr34*(-); 4 – Деметра (+); 5 – Миронівська 67 (-); 6 – Сніжана (+); 7 – Подольнка (-); 8 – Миронівська 30 (+); 10 – Веста (+)

ниці української селекції на наявність алеля *Lr34*(+) [21]. Серед 9 українських сортів 4 сорти мали алель *Lr34*(+), а з трьох сортів миронівської селекції, які не використовувались у нашому дослідженні (Миронівська 33, Миронівська 65, Миронівська 808), тільки один – Миронівський 65 – містив алель *Lr34*(+).

Нагадаємо, що ген *Lr34* не є расоспецифічним. Він забезпечує загальну стійкість до різних патотипів бурої іржі у дорослих рослин [21, 22]. Відомо також, що ген *Lr34* міститься на хромосомі 7DS [6, 13], на якій містяться також гени стійкості до жовтої іржі *Yr 18* [10], стеблової іржі [23], жовтої карликовості ячме-

Алельний стан локусу *Lr34* у досліджених сортів пшениці згідно з результатами аналізу ПЛР за кодомінантним маркером *cssf5* Таблиця 2

№ пор.	Сорт пшениці	Рік створення	Наявність <i>Lr34</i> (+) або <i>Lr34</i> (-) згідно з результатами ПЛР
1	Колумбія	2003	—
2	Смуглянка	2004	—
3	Деметра	Немає даних	+
4	Миронівська 67	1998	—
5	Сніжана	2000	+
6	Миронівська ранньостигла	1998	—
7	Миронівська 30	1995	+/-
8	Подольнка	2003	—
9	Миронівська 808	1963	—
10	Оберіг Миронівський к/с 93	Немає даних	—
11	Золотокоса	2005	—
12	Добірна	Немає даних	—
13	Зимоярка	2004	—
14	Веста	2000	+
15	Веснянка	2002	—
16	Славна	Немає даних	—
17	Унікум	Немає даних	—
18	Богдана	2004	—
19	Наталка	Немає даних	—
20	Ясногірка	Немає даних	—
21	Снігурка	2007	—
22	Хазарка	2005	—
23	Колос Миронівщини	2005	—
24	Калинова	2005	-
25	Хурговина	2004	—
26	Сміла	Немає даних	—
27	Миронівська Сторічна	2006	—
28	Світанок Миронівський	Немає даних	—
29	Монотип	2005	—
30	Святкова	2006	+

ню *Bdv1* [10]. Це робить цінним локус *Lr34* як маркер у селекції на стійкість до перелічених вище патогенів. Тому отримані результати свідчать на користь того, що при створенні нових сортів пшениці, стійких до бурої іржі, слід орієнтуватися саме на сорти, які містять алель *Lr34(+)*. До речі, два із проаналізованих нами сортів пшениці — Деметра та Сніжана — досить широко вирощуються в Україні та Росії і віднесені до переліку сортів, що мають стійкість до грибних захворювань [24, 25].

Також із отриманих результатів видно, що серед досліджених сортів відсоток таких, що містять *Lr34(+)*, є досить низьким. Так, із 30 проаналізованих сортів лише 5 були визначені як *Lr*-позитивні. В цілому це становить приблизно 16,7 %. Водночас порівняно низький відсоток *Lr34*-«позитивних» сортів повинен спонукати селекціонерів організувати селекційний процес таким чином, щоб збільшити частку алелей *Lr34(+)* у новостворюваних сортах.

Отже, в результаті проведених робіт були синтезовані специфічні праймери для виявлення та ідентифікації алельного стану гена *Lr34*. За допомогою ПЛР виявлено п'ять сортів м'якої пшениці миронівської селекції, що містять алель *Lr34(+)*. Отримані результати передані до Миронівського інституту пшениці ім. В.М. Ремесла НААН України для використання у подальших селекційних програмах, спрямованих на отримання сортів пшениці, стійких до грибних захворювань.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Oelke L.M., Kolmer J.A.* Genetics of leaf rust resistance in spring cultivars **Alsen and Norm** // *Phytopathology*. — 2005. — Vol. 95(7). — P. 773–778.
2. *Uenaga K., Singh R.P., Huerta-Espino J., William H.M.* Microsatellite markers for genes *Lr34/Yr18* and other quantitative trait loci for leaf rust and stripe rust resistance in bread wheat // *Phytopathology*. — Vol. 93(7). — P. 881–890.
3. *Lagudah E.S., Krattinger S.G., Herrera-Foessel S. et al.* Gene-specific markers for the wheat gene *Lr34/Yr18/Pm38* which confers resistance to multiple fungal pathogens // *Theor. Appl. Genetics*. — 2009. — Vol. 119. — P. 889–898.
4. *Dyck P.L.* Genetics of leaf rust reaction in three introductions of common wheat // *Can. J. Genet. Cytol.* — 1977. — Vol. 19. — P. 711–716.
5. *Dyck P.L.* The association of a gene for leaf rust resistance with the chromosome 7D suppressor of stem rust resistance in common wheat // *Genome*. — 1987. — Vol. 29. — P. 467–469.
6. *Lagudah E.S., McFadden H., Singh R.P. et al.* Molecular genetic characterization of the *Lr34/Yr18* slow rusting resistance gene region in wheat // *Theor. Appl. Genetics*. — Vol. 114. — P. 21–30.
7. *McFadden E.S., Sears E.R.* The origin of *Triticum spelta* and its free-threshing hexaploid relatives // *J. Hered.* — 1946. — Vol. 37. — P. 81–89.
8. *Spielmeier W., Singh R.P., McFadden H. et al.* Fine scale genetic and physical mapping using interstitial deletion mutants of *Lr34/Yr18*: a disease resistance locus effective against multiple pathogens in wheat // *Theor. Appl. Genetics*. — 2008. — Vol. 116. — P. 481–490.
9. *McIntosh R.A.* Close genetic linkage of genes conferring adult-plant resistance to leaf rust and stripe rust in wheat // *Plant Pathol.* — 1992. — Vol. 41. — P. 523–527.
10. *Singh R.P.* Genetic association of leaf rust resistance gene *Lr34* with adult plant resistance to stripe rust in bread wheat // *Phytopathology*. — 1992. — Vol. 82. — P. 835–838.
11. *Krattinger S.G., Lagudah E.S., Spielmeier W. et al.* A putative ABC transporter confers durable resistance to multiple fungal pathogens in wheat // *Science*. — 2009. — Vol. 323. — P. 1360–1363.
12. *Schmurbusch T., Paillard S., Schori A. et al.* Dissection of quantitative and durable leaf rust resistance in Swiss winter wheat reveals a major resistance QTL in the *Lr34* chromosomal region // *Theor. Appl. Genetics*. — 2004. — Vol. 108. — P. 477–484.
13. *Suenaga K., Singh R.P., Huerta-Espino J., William H.M.* Microsatellite markers for genes *Lr34/Yr18* and other quantitative trait loci for leaf rust and stripe rust resistance in bread wheat // *Phytopathology*. — 2003. — Vol. 93. — P. 881–890.
14. *Priyamvada, Ratan Tiwari, Saharan M. S. et al.* STS marker based tracking of slow rusting *Lr34* gene in Indian wheat genotypes // *Ind. J. Biotechnol.* — 2009. — Vol. 8. — P. 207–213.
15. *Bossolini E., Krattinger S.G., Keller B.* Development of simple sequence repeat markers specific for the *Lr34* resistance region of wheat using sequence information from rice and *Aegilops tauschii* // *Theor. Appl. Genetics*. — 2006. — Vol. 113. — P. 1049–1062.
16. *Ellis M.H., Rebetzke G.J., Azanza F. et al.* Molecular mapping of gibberellin-responsive dwarfing genes in bread wheat // *Theor. Appl. Genetics*. — 2005. — Vol. 111. — P. 423–430.
17. *Ruder M.S., Korzun V., Wendehake K. et al.* A microsatellite map of wheat // *Genetics*. — 1998. — Vol. 149. — P. 2007–2023.

18. Krattinger S.G., Keller B. Development of simple sequence repeat markers specific for the Lr34 resistance region of wheat using sequence information from rice and *Aegilops tauschii* // Theor. Appl. Genetics. — 2006. — Vol. 113. — P. 1049—1062.
19. Lagudah E.S., Krattinger S.G., Herrera-Foessel S. et al. Gene-specific markers for the wheat gene *Lr34/Yr18/Pm38* which confers resistance to multiple fungal pathogens // Theor. Appl. Genetics. — 2009. — Vol. 119. — P. 889—898.
20. Пірко Я.В., Корховий В.І., Кашеваров Г.П. та ін. Впровадження методів контролю генетично модифікованих компонентів у насінневному матеріалі сільськогосподарських культур та стандартизація їх нормативного забезпечення // Наука та інновації. — 2009. — Т. 5, № 2. — С. 38—49.
21. Урбанович О.Ю., Малышев С.В., Долматович Т.В., Картель Н.А. Определение генов устойчивости к бурой ржавчине в сортах пшеницы и (*TRITICUM AESTIVUM* L.) с использованием молекулярных маркеров // Генетика. — 2006. — Т. 42, № 5. — С. 675 — 683.
22. Singh R.P., Rajaram S. Genetics of adult plant resistance of leaf rust in Frontana and CIMMYT wheat // Genome. — 1992. — Vol. 5. — P. 24 — 31.
23. Liu J.Q., Kolmer J.A. Genetics of stem rust resistance in wheat cv's Pasqua and Taber // Phytopathology. — 1998. — Vol. 88. — P. 171—176.
24. <http://www.ukrgold.net/catalog/page2807-ent45544/48113.htm>.
25. Чуприна В.П., Соколов М.С. Система мероприятий по защите посевов пшеницы от желтой ржавчины // «АгроXXI». — 1999. — № 10. (<http://www.agroxxi.ru/journals/199910/199910.pdf>).

Я.В. Пірко, А.В. Карелов, Н.А. Козуб,
 И.А. Созинов, Н.Н. Пірко, А.И. Емец, В.И. Корховой,
 В.Т. Колочий, Я.Б. Блум, А.А. Созинов

ВНЕДРЕНИЕ МЕТОДОВ, БАЗИРУЮЩИХСЯ
 НА ПРОВЕДЕНИИ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ
 РЕАКЦИИ, ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ ГЕНОВ
 УСТОЙЧИВОСТИ К БУРОЙ РЖАВЧИНЕ
 У ПШЕНИЦЫ

Внедрены молекулярно-генетические методы обнаружения гена устойчивости к бурой ржавчине (*Puccinia triticina*)

cina) — *Lr34*, отвечающего за родовую неспецифическую резистентность пшеницы к патогену. Для определения аллельного состояния локуса *Lr34* с помощью полимеразной цепной реакции с использованием кодоминантного маркера *cssfr5* проанализировано 30 сортов пшеницы селекции Мироновского института пшеницы им. В.М. Ремесла НААН Украины и Института физиологии растений и генетики НАН Украины. Установлено, что у исследованных сортов доля таких, которые содержат аллель *Lr34(+)*, обеспечивающий устойчивость к бурой ржавчине, составляет 16,7 %. Полученные результаты переданы в Мироновский институт пшеницы для использования в селекционном процессе.

Ключевые слова: пшеница, бурая ржавчина (*Puccinia triticina*), устойчивость к бурой ржавчине, локус *Lr34*, полимеразная цепная реакция.

Ya. V. Pirko, A. V. Karelov, N. A. Kozub,
 I. A. Sozinov, N. N. Pirko, A. I. Yemets, V. I. Korkhovy,
 V. T. Koliuchiy, Ya. B. Blume, A. A. Sozinov

IMPLEMENTATION OF THE METHODS
 FOR DETECTION OF LEAF RUST RESISTANCE
 GENES IN WHEAT BASED ON CARRYING
 OUT POLYMERASE CHAIN REACTION

The molecular genetic methods for identification of leaf rust (*Puccinia triticina*) resistance gene — *Lr34*, which is responsible for the generic non-specific resistance of wheat to the pathogen were developed. Polymerase chain reaction with codominant marker *cssfr5* was carried out to determine the allelic status of the loci *Lr34* in the 30 wheat varieties selected in Mironivka Institute of Wheat of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine and in the Institute of Plant Physiology and Genetics of National Academy of Sciences of Ukraine. The varieties containing allele *Lr34(+)*, which confers resistance to leaf rust, represented 16,7 % from total number of all tested varieties. Obtained results were handed over to the Mironovka Institute of Wheat for use in breeding process.

Key words: wheat, leaf rust (*Puccinia triticina*), leaf rust resistance, loci *Lr34*, polymerase chain reaction (PCR).

Стаття надійшла до редакції 23.06.11