

ІВАЩУК Б.В.<sup>1</sup>, ПІРКО Я.В.<sup>1✉</sup>, СПІВАК С.І.<sup>1</sup>, ЄМЕЦЬ А.І.<sup>1</sup>, КАЛАФАТ Л.О.<sup>1</sup>, КАРЕЛОВ А.В.<sup>1,2</sup>, КОЗУБ Н.О.<sup>1,2</sup>, БЛЮМ Я.Б.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України,

Україна, 04123, м. Київ, вул. Осиповського, 2а, e-mail: cellbio@cellbio.freenet.viaduk.net

<sup>2</sup> Інститут захисту рослин НААН України,

Україна, 03022, м. Київ, вул. Васильківська, 33

✉ yarvp1@gmail.com

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ЗРАЗКІВ ПШЕНИЦІ УКРАЇНСЬКОГО ТА ЗАКОРДОННОГО ПОХОДЖЕННЯ НА НАЯВНІСТЬ ГЕНІВ СТІЙКОСТІ ДО СТЕБЛОВОЇ ІРЖІ

**Мета.** Пошук стійкості генів *Sr2* та *Sr33* до стеблової іржі у закордонних та вітчизняних сортах пшениці за допомогою молекулярно-генетичних маркерів. **Методи.** Застосовували ЦТАБ-метод для виділення ДНК; ПЛР зі специфічними праймерами, в тому числі власного дизайну; електрофорез продуктів ПЛР в 1,5 %-ному агарозному гелі. **Результати.** Здійснено аналіз 16 сортів пшениці зарубіжної та вітчизняної селекції на наявність генів стійкості (*Sr2* та *Sr33*) до стеблової іржі. Серед протестованих зразків лише два містили алель стійкості гена *Sr2*, і ще два – *Sr33*. У сортів вітчизняної селекції Харківська-6 та Харківська-12, залучених у дослідження, не було виявлено алелів стійкості *Sr*-генів. **Висновки.** Серед проаналізованих ліній/сортів пшениці вітчизняної та зарубіжної селекції з цінними ознаками виявлено лише чотири зразки, що містять алелі стійкості генів *Sr2* та *Sr33*.

**Ключові слова:** пшениця, молекулярно-генетичні маркери, гени стійкості, стеблова іржа.

В останні роки особливе занепокоєння викликає виникнення групи рас стеблової іржі пшениці, які походять від загальновідомої раси Ug99. Збудник стеблової іржі пшениці – біотрофний гриб виду *Puccinia graminis* Pers. f. sp. *tritici*. Представники групи рас Ug99 є стійкими до більшості поширених генів стійкості до стеблової іржі у пшениці; вони демонструють високу динаміку поширення та здатність до мутагенезу. Саме тому пошук факторів стійкості до цього грибного патогену пшениці є пріоритетним напрямком досліджень в усьому світі.

*Puccinia graminis* належить до біотрофних

фітопатогенних грибів – облигатних паразитів рослин, які за час еволюції розвинули здатність проникати в клітину рослини-хазяїна без її руйнування та отримувати поживні речовини й енергію [1]. За епіфітотії цього патогену може спостерігатися значний недобір урожаю пшениці, що становить інколи 10–50 % для особливо патогенних рас стеблової іржі [4, 5].

Одним із факторів, які роблять стеблову іржу особливо небезпечною хворобою пшениці, є надзвичайний поліморфізм та здатність до мутагенезу збудника. Наразі відомо більше 300 рас *P. graminis*, і регулярно, через деякий час після широкого впровадження певного гена стійкості до хвороби, виникає вірулентна до цього гена раса, яка завдає значних збитків сільському господарству окремих країн світу [2]. Так, стійкість ефективного гена *Sr31* [7, 8], інтрогресованого в значну кількість популярних сортів пшениці разом із хромосомним фрагментом 1RS жита (*Secale cereale* L.) [1], за появи у 1999 р. в Уганді нової раси *P. graminis* Ug99 була подолана [3, 9]. І, хоча було вжито заходів для локалізації раси Ug99 та її похідних, вони наразі розповсюдилися по усім східному узбережжям Африки, а раса ТТКСК, крім цього, була виявлена також на Близькому Сході [3, 4, 9, 10]. Зокрема, особливо шкодочинними та такими, що стали вірулентними щодо сортів пшениці, які містили не лише *Sr31*, але й інші гени стійкості до стеблової іржі, є раси: ТТКСТ, ТТТСК, ТТКСР, РТКСК, РТКСТ, ТТКТТ, ТТКТК, ТТНСК, ТТНСТ та РТКТК, виявлені у 2005–2015 рр., крім Уганди, в Танзанії, Еритреї, Єгипті, Руанді, Кенії, Ефіопії, Південній Африці, Ємені, Мозамбіку, Зімбабве [10–13]. Особ-

© ІВАЩУК Б.В.<sup>1</sup>, ПІРКО Я.В., СПІВАК С.І., ЄМЕЦЬ А.І., КАЛАФАТ Л.О., КАРЕЛОВ А.В., КОЗУБ Н.О., БЛЮМ Я.Б.

ливе занепокоєння викликає раса ТТКТК, яка лише за 2014–2015 рр. розповсюдилася практично усім східним узбережжям Африки [13].

І хоча в Україні не було зафіксовано значних втрат урожаю, пов'язаних із стебловою іржею, зміни клімату, які ми наразі спостерігаємо, цілком можуть змінити ситуацію на гірше. З огляду на можливість перенесення грибних спор із потоками повітря на значні відстані та наявність неконтрольованих шляхів поширення вантажів у світі, проникнення рас стеблової іржі Ug99 на територію Європи та України зокрема можна вважати цілком вірогідним [14]. Практика пошуку та застосування в селекції пшениці генів стійкості до різних видів іржі, зокрема *Sr31*, свідчить про те, що відповідні гени можуть бути досить ефективним та порівняно недорогим способом контролю поширення *P. graminis*, до того ж їх впровадження суттєво знижує хімічне навантаження на навколишнє середовище, оскільки мінімізує застосування фунгіцидів [5, 15, 16].

У зв'язку з цим було поставлено за мету здійснити пошук алелів стійкості генів *Sr2* та *Sr33* у деяких закордонних та вітчизняних сортах та лініях пшениці.

### Матеріали і методи

У роботі використовували насіння сортів та ліній (RL5711 x W984-8767), (RL6087 x W984-8767), DH31, Харківська-6, Харківська-12, (RL5711 x FL62R1), RL6087, RL5711, (RL6087 x Hoffman), Selkirk, DK20, (RL5711 x Carberry), (RL6087 x Carberry), Renown, Pembina, HK16. Зерно ліній та сортів пшениці м'якої, які пройшли фітопатологічне тестування в польових умовах та інфекційному розсаднику, пророщували для подальшого виділення ДНК. Для успішного пророщування насіння попередньо стерилізували, щоб уникнути зараження грибами. Стерилізація передбачала промивку 5–8 зерен кожного сорту в 10 %-ному розчині гіпохлориту натрію упродовж 10 хв. Після цього насіння промивали дистильованою водою 3 рази впродовж 5 хв. Зерно пророщували до стадії етиольованих проростків у чашках Петрі в термостаті за температури 28°C протягом 6 діб. Геномну ДНК екстрагували з проростків, застосовуючи ЦТАБ-метод [6]. Якість і кількість ДНК визначали за допомогою електрофорезу в 1,5 %-ному агарозному гелі і спектрофотометрично на біофотометрі «Eppendorf». Зразки ДНК зберігали за температури -20°C.

Для ідентифікації маркерної послідовності *csSr2*, асоційованої з геном *Sr2*, було використано таку пару праймерів:

Forward 5'-CAAGGGTTGCTAGGATTGG-AAAAC-3'

Reverse 5'-AGATAACTCTTATGATCTTACATTTTTCTG-3'

Для детекції алельного стану гена *Sr2* продукт ПЛР (337 п. н.), отриманий за допомогою цих праймерів, має бути розщеплений ендонуклеазою рестрикції *BspHI*, після чого утворюються фрагменти довжиною 225 і 112 п. н. – у разі, якщо маркер асоційований з алелем чутливості гена *Sr2*, або три фрагменти – 172, 112 та 53 п. н. – у разі, якщо маркер асоційований з алелем стійкості гена *Sr2* (фенотип «Норе»).

Послідовності праймерів, які використовувалися для ідентифікації алельних станів гена *Sr33* і дизайн яких було здійснено власноруч, користуючись наявною інформацією в базі NCBI, були такими:

а) праймери для ідентифікації алелів стійкості гена *Sr33*:

Forward A1 5'-GCCAGTAATTTTCCTGA-AATATTGTATTGAA-3'

Reverse A2 5'-TCAAATATTACAATGGT-TAGGTGCATC-3'

розмір ПЛР продукту складає 254 п. н.;

б) праймери для ідентифікації алелів чутливості гена *Sr33*:

Forward B1 5'-CCAGTAATTTTCCTGA-AATATTGTATTGTTG-3'

Reverse B2 5'-GACTCTTATTGCATTG-CATTATCATTC-3'

розмір ПЛР продукту складає 159 п. н.

Кожна ПЛР суміш об'ємом 25 мкл складалася з буфера 10 mM Tris-HCl, який містив 50 mM KCl, 0,8 % (v/v) Nonidet P40; 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>; 1 пМ реверсного праймеру; 1 пМ форвардного праймеру; 2 од. Taq полімерази; 0,25 mM кожного з трифосфатів (ТТФ, ГТФ, АТФ, ЦТФ) і до 1 мкг геномної ДНК.

Температурні режими ПЛР для дослідження наявності генів стійкості були такими:

а) для праймерів Forward A1 та Forward A2: 1 цикл – 95°C (4 хв.); далі 32 цикли 95°C 30 с., 61°C 30 с., 72°C 60 с.; 1 цикл 72°C 7 хв.;

б) для праймерів Forward B1 та Forward B2: 1 цикл – 95°C 4 хв.; далі 32 цикли 95°C 30 с., 59°C 30 с., 72°C 60 с.; 1 цикл 72°C 7 хв.;

в) для праймерів *csSr2*: 1 цикл – 95°C 4 хв.; 32 цикли 95°C 30 с., 60°C 30 с., 72°C 60 с.; 1 цикл 72°C 7 хв.

### Результати та обговорення

За допомогою молекулярно-генетичних маркерів було проаналізовано 16 сортів та ліній пшениці, відібраних як потенційні донори алелів стійкості генів *Sr2* та *Sr33*. Застосовуючи молекулярно-генетичний маркер *csSr2* для детекції алельних станів гена *Sr2*, було визначено, що лише два сорти пшениці, а саме Selkirk та Renown, продемонстрували наявність характерного для алеля стійкості продукту рестрикції довжиною 172 п. н. (фенотип «Норе») (рис. 1).

За використання ген-специфічних праймерів власної розробки для детекції алельних станів гена *Sr33* було визначено, що лише два зразки пшениці, а саме DH31 та RL5711, продемонстрували наявність характерного для алеля стійкості продукту ампліфікації довжиною 254 п. н. Жоден досліджений зразок не продемонстрував наявності алеля чутливості гена *Sr33* під час застосування ген-специфічних праймерів власної розробки (рис. 2).

У сортів вітчизняної селекції, залучених до аналізу (Харківська-6 та Харківська-12), не було виявлено алелів стійкості для обох досліджуваних *Sr*-генів. Ген *Sr33* наразі є ефективним проти вірулентних рас *P. graminis*, зокрема таких, як Ug99 та її похідних. Цей ген було спочатку визначено у *Aegilops tauschii* та перенесено у хромосому 1DS пшениці м'якої [26, 27]. На транслокованому плечі хромосоми 1DS *Ae. tauschii*, окрім *Sr33*, знаходиться ген *Sr45*, який також є ефективним проти рас стеблової іржі Ug99 [9], та ген *Lr21*, що забезпечує високий рівень стійкості до бурої іржі, зокрема рас цього

фітопатогена, поширених в Україні. У польових дослідженнях не було визначено рас стеблової іржі, які були б вірулентними до сортів пшениці, що містять *Sr33*-гени [9, 18, 20].

Ген *Sr2/Lr27/Pbc* забезпечує помірну расо-неспецифічну APR (adult plant resistance) стійкість до всіх рас стеблової іржі, а також расо-специфічну ювенільну стійкість до бурої іржі – [1, 9, 17, 19, 22, 24].

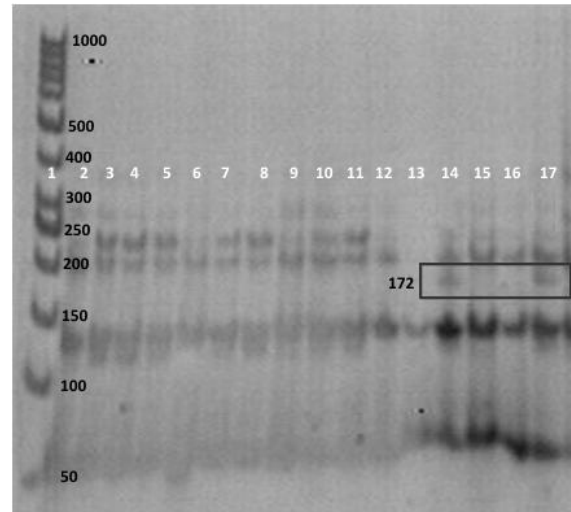


Рис. 1. Електрофореграма продуктів ПЛР, реакційна суміш якої містила праймери до маркерної послідовності *csSr2*. Лунки: 1 – ДНК-маркер; 2 – (RL5711 x W984-8767); 3 – (RL6087 x W984-8767); 4 – DH31; 5 – Харківська-6; 6 – Харківська-12; 7 – (RL5711 x FL62R1); 8 – RL6087; 9 – RL5711; 10 – (RL6087 x Hoffman); 11 – (RL6087 x Carberry); 12 – DK20; 13 – (RL5711 x Carberry); 14 – Selkirk; 15 – HK16; 16 – Pembina; 17 – Renown.

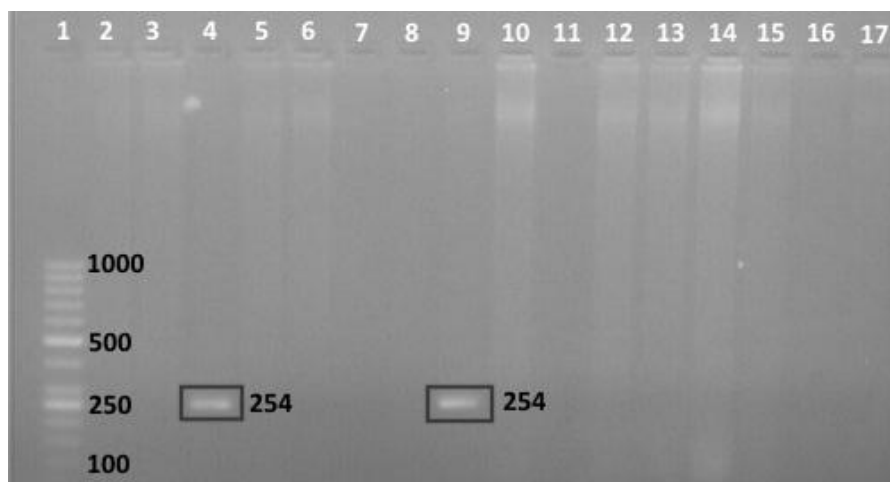


Рис. 2. Електрофореграма продуктів ПЛР, реакційна суміш якої містила праймери до маркерної послідовності гена *Sr33*. Лунки: 1 – ДНК-маркер; 2 – (RL5711 x W984-8767); 3 – (RL6087 x W984-8767); 4 – DH31; 5 – Харківська-6; 6 – Харківська-12; 7 – (RL5711 x FL62R1); 8 – RL6087; 9 – RL5711; 10 – (RL6087 x Hoffman); 11 – Selkirk; 12 – DK20; 13 – (RL5711 x Carberry); 14 – (RL6087 x Carberry); 15 – Renown; 16 – Pembina; 17 – HK16.

Цей ген було перенесено із полбидозернянки (*Triticum turgidum* L. ssp. *dicoccum*) сорту Yaroslav у 20-х роках минулого сторіччя, в результаті чого було одержано сорт Норе [19]. У подальшому було визначено, що доросла расо-специфічна стійкість у сорті Норе зумовлена наявністю одного гена, який отримав позначення *Sr2* [23]. Стійкість, пов'язана з геном *Sr2*, характеризується меншою кількістю та розміром урединій в інфікованих рослинах, що несуть цей ген в алейному стані типу «Норе»; крім того, було встановлено, що найбільший рівень експресії стійкості припадає на фазу цвітіння [25]. Ген зберігає ефективність протягом більш ніж 80-ти років, і його ефективність розповсюджується на всі раси стеблової іржі, включаючи з Ug99 [19, 22]. Крім цього, для гена *Sr2*, як і для інших APR-генів, була зафіксована

здатність до підсилення визначених та невизначених факторів стійкості до стеблової іржі [21].

### Висновки

У результаті аналізу 16 зразків пшениці зарубіжної та вітчизняної селекції визначено сорти та лінії, які несуть алелі стійкості генів *Sr2*, *Sr33*. Так, Selkirk та Renown продемонстрували наявність алеля стійкості гена *Sr2*, а DH31 та RL5711 – наявність алеля стійкості гена *Sr33*. Ці дані можуть бути використані для наступної селекції вітчизняних сортів пшениці на стійкість до стеблової іржі.

*Робота виконана в рамках проекту № ДЗ/17-2017 «Створення селекційних ліній м'якої пшениці з генами стійкості до стеблової іржі штаму Ug99» (№ 0117U006842).*

### Література

- McIntosh, R.A. Wheat Rusts: An Atlas of Resistance Genes. Canberra; Australia: CSIRO, 1995. 205 p.
- Schumann G.L. Stem rust of wheat (black rust). The Plant Health Instructor. 2000. URL: <https://doi.org/10.1094/PHI-I-2000-0721-01> (дата звернення: 21.03.2018).
- Pretorius Z.A., Singh R.P., Payne T.S. Detection of virulence to wheat stem rust resistance gene *Sr31* in *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* in Uganda. *Plant Disease*. 2000. Vol. 84, No. 2. P. 203.
- Stokstad E. Deadly wheat fungus threatens world's breadbaskets. *Science*. 2007. Vol. 315. P. 1786–1787.
- Loughman R. Yield loss and fungicide control of stem rust of wheat. *Austral. J. Agricult. Res.* 2005. Vol. 56. P. 91–96.
- Doyle J.J., Doyle J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.* 1987. Vol. 19. P. 11–15.
- Das B.K., Saini A., Bhagwat S.G., Jawali N. Development of SCAR markers for identification of stem rust resistance gene *Sr31*. *Plant Breed.* 2006. Vol. 125. P. 544–549.
- Tomar S.M. Genes for resistance to rusts and powdery mildew in wheat. Indian Agricultural Research Institute: New Delhi, India, 2001. 152 p.
- Singh R.P., Hodson D.P., Jin Y. Emergence and Spread of New Races of Wheat Stem Rust Fungus: Continued Threat to Food Security and Prospects of Genetic Control. *Phytopathol.* 2015. Vol. 105, No. 7. P. 872–884.
- Singh R.P., Hodson D.P., Huerta-Espino J. The emergence of Ug99 races of the stem rust fungus is a threat to world wheat production. *Annu. Rev. Phytopathol.* 2011. Vol. 49. P. 465–481.
- Pretorius Z.A., Szabo L.J., Boshoff W.H.P. First Report of a New TTKSF Race of Wheat Stem Rust (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) in South Africa and Zimbabwe. *Plant Disease*. 2012. Vol. 96, No. 4. P. 590.
- Fetch T., Zegeye T., Park R.F. Detection of Wheat Stem Rust Races TTHSK and PTKTK in the Ug99 Race Group in Kenya in 2014. *Plant Disease*. 2016. Vol. 100, No. 7. P. 1495–1495.
- Patpour M., Hovmöller S.M., Justesen A.F. Emergence of Virulence to *SrTmp* in the Ug99 Race Group of Wheat Stem Rust, *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*, in Africa. *Plant Disease*. 2016. Vol. 100, No. 2. P. 522–552.
- Watson I.A. Long distance transport of spores of *Puccinia graminis tritici* in the southern hemisphere. Proceedings of the Linnean Society of New South Wales. 1983. Vol. 106. P. 311–321.
- Івашук Б.В., Пірко Я.В., Блюм Я.Б. Використання послідовностей NB домена білків класу NB-LRR для скринінгу генів стійкості до стеблової іржі. *Фактори експериментальної еволюції організмів*: зб. наук. пр. К.: Логос, 2016. Т. 19. С. 25–32.
- Ivaschuk B.V., Pirko Ya.V., Galkin A.P., Blume Ya.B. *Sr33* and *Sr35* gene homolog identification in genomes of cereals related to *Aegilops tauschii* and *Triticum monococcum*. *Cytol.Genet.* 2016. 50 (4). P. 221–230.
- McIntosh R.A., Dubcovsky J., Rogers W.J. Catalogue of gene symbols for wheat. SHIGEN. URL: <http://wheat.pw.usda.gov/ggpages/wgc/98/> (дата звернення: 21.03.2018).
- Huerta-Espino J. Analysis of Wheat Leaf and Stem Rust Virulence on a Worldwide Basis: Ph.D. thesis. University of Minnesota, USA, 1992.
- McFadden E.S. A successful transfer of emmer characters to vulgare wheat. *J. Am. Soc. Agron.* 1930. Vol. 22. P. 1020–1034.
- Jin Y., Singh R.P., Ward R.W. Characterization of seedling infection types and adult plant infection responses of monogenic *Sr* gene lines to race TTKS of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. *Plant Disease*. 2007. Vol. 91. P. 1096–1099.
- Singh S., Singh R.P., Bhavani S., Huerta-Espino J., Eugenio L.V. QTL mapping of slow-rusting, adult plant resistance to race Ug99 of stem rust fungus in PBW343/Muu RIL population. *Theor. Appl. Genet.* 2013. Vol. 126, No. 5. P. 1367–1375.

22. McIntosh R.A. Genetic and cytogenetic studies of stem rust, leaf rust and powdery mildew resistances in Hope and related wheat cultivars. *Austral. J. Biol. Sci.* 1967. Vol. 20. P. 1181–1192.
23. Hare R.A. Genetic and cytogenetic studies of durable adult-plant resistance in Hope and related cultivars to wheat rusts. *Z. Pflanzenzucht.* 1979. Vol. 83. P. 350–367.
24. Mago R., Brown-Guedira G., Dreisigacker S. An accurate DNA marker assay for stem rust resistance gene *Sr2* in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 2011. Vol. 122, No. 4. P. 735–744.
25. Sunderwirth S.D. Greenhouse evaluation of the adult plant resistance of *Sr2* to wheat stem rust. *Phytopathology.* 1980. Vol. 70. p. 634–637.
26. Kerber E.R. Resistance to leaf rust in hexaploid wheat: *Lr32* a third gene derived from *Triticum tauschii*. *Crop Sci.* 1987. Vol. 27. P. 204–206.
27. Jones S.S., Dvorak J., Knott D.R., Qualset C.O. Use of double-ditelosomic and normal chromosome 1D recombinant substitution lines to map *Sr33* on chromosome arm 1DS in wheat. *Genome.* 1991. Vol. 34. P. 505–508.

## References

1. McIntosh, R.A. Wheat Rusts: An Atlas of Resistance Genes. Canberra; Australia: CSIRO, 1995. 205 p.
2. Schumann G.L. Stem rust of wheat (black rust). The Plant Health Instructor. 2000. URL: <https://doi.org/10.1094/PHI-I-2000-0721-01> (Last accessed: 21.03.2018).
3. Pretorius Z.A., Singh R.P., Payne T.S. Detection of virulence to wheat stem rust resistance gene *Sr31* in *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* in Uganda. *Plant Disease.* 2000. Vol. 84, No. 2. P. 203.
4. Stokstad E. Deadly wheat fungus threatens world's breadbaskets. *Science.* 2007. Vol. 315. P.1786–1787.
5. Loughman R. Yield loss and fungicide control of stem rust of wheat. *Austral. J. Agricult. Res.* 2005. Vol. 56. P. 91–96.
6. Doyle J.J., Doyle J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.* 1987. Vol. 19. P. 11–15.
7. Das B.K., Saini A., Bhagwat S.G., Jawali N. Development of SCAR markers for identification of stem rust resistance gene *Sr31*. *Plant Breed.* 2006. Vol. 125. P. 544–549.
8. Tomar S.M. Genes for resistance to rusts and powdery mildew in wheat. Indian Agricultural Research Institute: New Delhi, India, 2001. 152 p.
9. Singh R.P., Hodson D.P., Jin Y. Emergence and Spread of New Races of Wheat Stem Rust Fungus: Continued Threat to Food Security and Prospects of Genetic Control. *Phytopathol.* 2015. Vol. 105, No. 7. P. 872–884.
10. Singh R.P., Hodson D.P., Huerta-Espino J. The emergence of Ug99 races of the stem rust fungus is a threat to world wheat production. *Annu. Rev. Phytopathol.* 2011. Vol. 49. P. 465–481.
11. Pretorius Z.A., Szabo L.J., Boshoff W.H.P. First Report of a New TTKSF Race of Wheat Stem Rust (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) in South Africa and Zimbabwe. *Plant Disease.* 2012. Vol. 96, No. 4. P. 590.
12. Fetch T., Zegeye T., Park R.F. Detection of Wheat Stem Rust Races TTHSK and PTKTK in the Ug99 Race Group in Kenya in 2014. *Plant Disease.* 2016. Vol. 100, No. 7. P. 1495–1495.
13. Patpour M., Hovmöller S.M., Justesen A.F. Emergence of Virulence to *SrTmp* in the Ug99 Race Group of Wheat Stem Rust, *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*, in Africa. *Plant Disease.* 2016. Vol. 100, No. 2. P. 522–552.
14. Watson I.A. Long distance transport of spores of *Puccinia graminis tritici* in the southern hemisphere. Proceedings of the Linnean Society of New South Wales. 1983. Vol. 106. P. 311–321.
15. Ivaschuk B.V., Pirko YA.V., Blume Ya.B. Nucleotide-binding domain sequences of NB-LRR class protein usage for screening of stem rust resistance genes. *Factors in experimental evolution of organisms.* K.: Logos, 2016. Vol. 19. P. 25–32.
16. Ivaschuk B.V., Pirko Ya.V., Galkin A.P., Blume Ya.B. *Sr33* and *Sr35* gene homolog identification in genomes of cereals related to *Aegilops tauschii* and *Triticum monococcum*. *Cytol.Genet.* 2016. 50 (4). P. 221–230.
17. McIntosh R.A., Dubcovsky J., Rogers W.J. Catalogue of gene symbols for wheat. SHIGEN. URL: <http://wheat.pw.usda.gov/ggpages/wgc/98/> (Last accessed: 21.03.2018).
18. Huerta-Espino J. Analysis of Wheat Leaf and Stem Rust Virulence on a Worldwide Basis: Ph.D. thesis. University of Minnesota, USA, 1992.
19. McFadden E.S. A successful transfer of emmer characters to vulgare wheat. *J. Am. Soc. Agron.* 1930. Vol. 22. P. 1020–1034.
20. Jin Y., Singh R.P., Ward R.W. Characterization of seedling infection types and adult plant infection responses of monogenic *Sr* gene lines to race TTKS of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. *Plant Disease.* 2007. Vol. 91. P. 1096–1099.
21. Singh S., Singh R.P., Bhavani S., Huerta-Espino J., Eugenio L.V. QTL mapping of slow-rusting, adult plant resistance to race Ug99 of stem rust fungus in PBW343/Muu RIL population. *Theor. Appl. Genet.* 2013. Vol. 126, No. 5. P. 1367–1375.
22. McIntosh R.A. Genetic and cytogenetic studies of stem rust, leaf rust and powdery mildew resistances in Hope and related wheat cultivars. *Austral. J. Biol. Sci.* 1967. Vol. 20. P. 1181–1192.
23. Hare R.A. Genetic and cytogenetic studies of durable adult-plant resistance in Hope and related cultivars to wheat rusts. *Z. Pflanzenzucht.* 1979. Vol. 83. P. 350–367.
24. Mago R., Brown-Guedira G., Dreisigacker S. An accurate DNA marker assay for stem rust resistance gene *Sr2* in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 2011. Vol. 122, No. 4. P. 735–744.
25. Sunderwirth S.D. Greenhouse evaluation of the adult plant resistance of *Sr2* to wheat stem rust. *Phytopathology.* 1980. Vol. 70. p. 634–637.
26. Kerber E.R. Resistance to leaf rust in hexaploid wheat: *Lr32* a third gene derived from *Triticum tauschii*. *Crop Sci.* 1987. Vol. 27. P. 204–206.
27. Jones S.S., Dvorak J., Knott D.R., Qualset C.O. Use of double-ditelosomic and normal chromosome 1D recombinant substitution lines to map *Sr33* on chromosome arm 1DS in wheat. *Genome.* 1991. Vol. 34. P. 505–508.

**IVASCHUK B.V.<sup>1</sup>, PIRKO Ya.V.<sup>1</sup>, SPIVAK S.I.<sup>1</sup>, YEMETS A.I.<sup>1</sup>, KALAFAT L.O.<sup>1</sup>, KARELOV A.V.<sup>1,2</sup>, KOZUB N.O.<sup>1,2</sup>, BLUME Ya.B.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Institute of Food Biotechnology and Genomics, Nat. Acad. of Sci. of Ukraine, Ukraine, 04123, Kyiv, Osipovskogo str., 2A, e-mail: cellbio@cellbio.freenet.viaduk.net*

<sup>2</sup> *Institute of Plant Protection NAAS of Ukraine, Ukraine, 03022, Kyiv, Vasylykivska str., 33*

#### **ANALYSIS OF UKRAINIAN AND FOREIGN WHEAT SAMPLES FOR THE PRESENCE OF STEM RUST RESISTANCE GENES USING MOLECULAR MARKERS**

**Aim.** The aim of the study was a search of *Sr2* and *Sr33* gene resistance alleles in foreign and domestic wheat samples using molecular genetic markers. **Methods.** The PCR with provided molecular genetic markers and with specific primers of own design was used; CTAB method was used for DNA extraction; electrophoresis in agarose gel was used.

**Results.** The analysis of 16 wheat samples using molecular genetic markers for stem rust resistance genes *Sr2* and *Sr33* was performed. In general, among 16 analyzed samples only two have *Sr2* gene resistance allele, and another two – *Sr33* gene resistance allele. There were no alleles of resistance of *Sr*-genes among the sorts of Ukrainian selection (Kharkivska 6 and Kharkivska 12), which were used in this study. **Conclusions.** There were four samples among the wheat lines/sorts with valuable traits of domestic and foreign selection that have *Sr2* and *Sr33* gene resistance alleles.

**Keywords:** wheat, molecular and genetic markers, resistance genes, stem rust.