

ГАЛАЄВ О. В.[✉], ГАЛАЄВА М. В.

Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннєзнавства та сортовивчення,
Україна, 65036, м. Одеса, вул. Овідіопольська дорога, 3, ORCID: 0000-0001-7247-2910, ORCID: 0000-0001-8133-5184

[✉] galaev7@ukr.net

ІДЕНТИФІКАЦІЯ МОЛЕКУЛЯРНИХ МАРКЕРІВ ЗЧЕПЛЕНИХ З ГЕНОМ СТІЙКОСТІ ДО БУРОЇ ЛИСТКОВОЇ ІРЖІ *Lr13* ПШЕНИЦІ

Мета. Виявлення кодомінантних молекулярних маркерів щільно зчеплених з геном стійкості до бурої листкової іржі *Lr13*. **Методи.** ПЛР з детекцією у поліакриламідному гелі. Гібридологічний аналіз. Фітопатологічна оцінка. Статистичний аналіз. **Результати.** Проведено ПЛР-аналіз сортів-носіїв гена *Lr13* і майже ізогенних ліній сорту Thatcher з генами стійкості до бурої листкової іржі *Lr13* (TcLr13), *Lr16* (TcLr16) й *Lr23* (TcLr23) та популяції F₂ TcLr13 x TcLr34 за мікросателітними локусами *Xbarc13*, *Xbarc55*, *Xgwm148*, *Xwmc261*, *Xgwm271*, *Xwmc272*, *Xwmc344*, *Xbarc361*, *Xgwm410*, *Xwmc474*, *Xwmc477* і *Xgwm630*. Для перевірки двох мікросателітних локусів *Xgwm148* і *Xwmc344* як кандидати маркери до гена *Lr13* використовували популяцію F₂, яка отримана від схрещування двох майже ізогенних ліній сорту Thatcher з генами стійкості до листкової іржі *Lr13* (TcLr13) і *Lr34* (TcLr34). **Висновки.** При порівнянні даних генотипування гібридів F₂ і фенотипового прояву стійкості до бурої листкової іржі визначили, що мікросателітний локус *Xwmc344* є близько зчепленим з геном *Lr13*.

Ключові слова: пшениця м'яка (*Triticum aestivum* L.), ізогенні лінії, бура листкова іржа, *Lr13*, мікросателітні маркери.

Бура листкова іржа, яку викликає збудник *Puccinia recondita* Rob. ex Desm f.sp. *tritici* (*Puccinia triticina* Erikss.), є одним із найпоширеніших і найбільш шкідливих захворювань пшениці й може спричинити великі втрати врожаю. Періодичність спалахів бурої іржі у Степу України становить один раз на п'ять років, а у Лісостепу й Поліссі – раз на два роки. Втрати врожаю можуть досягати 30 % і більше [1]. *Puccinia recondita* високо варіабельна щодо вірулентності. Знання вірулентності в популяції

іржі у поєднанні з даними про гени стійкості сортів пшениці є необхідними для успішного створення зародкової плазми стійкої до нинішніх патотипів іржі. На сьогоднішній день більше 90 генів *Lr* були офіційно каталогізовані в геномі пшениці. Однак стійкість сортів, що надається основними генами, має тенденцію долатися новими вірулентними патотипами іржі [2]. Отже, комбінація (пірамідкування) кількох генів *Lr* в одному сорті є корисною стратегією, оскільки комбіновані ефекти кількох генів дають сорту ширшу базу стійкості до хвороб, тим самим подовжуючи період ефективності.

До пірамідкування можна вдаватися і при використанні подоланих головних генів. У цьому випадку прийнятний рівень стійкості досягається за рахунок залишкових ефектів на стійкість, які проявляються кожним подоланим геном і їхньою адитивною дією [3]. Згідно з літературними даними, тривалість збереження стійкості сортів забезпечується, коли вертикальна (расоспецифічна) стійкість базується на використанні головних генів і поєднується з горизонтальною (нерасоспецифічною) стійкістю [4]. Створення сортів з такою стійкістю більш складний і тривалий процес, який передбачає залучення молекулярних маркерів.

Використання відомих головних генів стійкості, до яких розроблені молекулярні маркери, полегшує їх комбінування в одному сорті і забезпечує майже ідеальну генетичну стійкість, яка знижує ймовірність того, що весь комплекс генів стійкості, наявний у сорті, буде швидко подоланий незалежними мутаціями патогена. У зв'язку з цим розробка ДНК-технології добору генотипів м'якої пшениці з певними комплексами алелів генів стійкості до основних шкодочинних захворювань пшениці є актуальною.

Ген стійкості до бурої листкової іржі *Lr13* є одним з найбільш поширених генів у всьому

© ГАЛАЄВ О. В., ГАЛАЄВА М. В.

світі. Наприклад, більшість сортів пшениці CIMMYT (Centra International de Mejoramiento de Maiz y Trigo, Мексика) експресують ген стійкості *Lr13* [5]. За нормальних умов цей ген стійкості діє лише на стадії дорослої рослини, що характерно для так званої стійкості дорослих рослин (APR, adult-plant resistance). Самостійно ген *Lr13* більше не є ефективним у більшості районів вирощування пшениці [6, 7]. Однак комбінація генів *Lr13+Lr34* забезпечує польову стійкість пшениці в різних країнах світу протягом 36 років [8, 9]. Kloppfers та Pretorius [10] показали, що типи інфекції на рослинах, інфікованих патотипами UVPr2 або UVPr13 у теплиці, і тяжкість хвороби в полі продемонстрували вищі рівні стійкості в лініях з комбінацією генів *Lr13+Lr37*, ніж у лініях з окремими генами. У наших попередніх дослідженнях показано, що в сортах української селекції ген *Lr34* є достатньо поширеним [11]. Тому набуває інтересу ідентифікація гена *Lr13* у вітчизняних сортах пшениці м'якої. Згідно літературних джерел ідентифікацію гена *Lr13* виконують за допомогою пар праймерів до мікросателітних локусів *Xgwm630* і *Xbarc55*, які локалізовані на відстані 10.3 сМ й 3,2 сМ від гену *Lr13*, відповідно [12, 13]. Тобто локуси *Xgwm630* і *Xbarc55* не є щільно зчепленими з геном *Lr13*, до того ж маркер *Xgwm630* є доміантним. У зв'язку з цим метою роботи було виявлення кодомінантних молекулярних маркерів зчеплених з геном стійкості до бурі листкової іржі *Lr13*.

Матеріали і методи

Матеріалом для досліджень слугували дві батьківські майже ізогенні лінії сорту Thatcher (Tc) з генами стійкості до листкової іржі *Lr13* (TcLr13) і *Lr34* (TcLr34) й популяція F₂ TcLr13 x TcLr34 (76 рослин), що була створена у відділі загальної та молекулярної генетики Селекційно-генетичного інституту – Національного центру насіннезнавства та сортовивчення. Як позитивний контроль використовували сорти-носії гена *Lr13*: Lee, Jagger, Frontana, Kenya Farmer, Kenya Anisfer. Використані у схрещуванні майже ізогенні лінії TcLr13 і TcLr34 й сорти-носії гена *Lr13* надані National Plant Germplasm System (США) (<http://www.ars-grin.gov>).

ДНК виділяли з 5-денних паростків, зеленого листя або сухого зерна з використанням «Набору реагентів для виділення ДНК з біологічного матеріалу рослинного походження – Plant

Genomic DNA Extraction kit» (ТОВ «Виробнича фірма Сіместа», Україна) згідно інструкції.

ПЛР проводили у 0,2 мкл-мікропробірці з використанням ампліфikatorу T100 («BioRad», США). Реакційна суміш об'ємом 25 мкл містила: 16,6 мМ (NH₄)₂SO₄, 67 мМ Трис-НСl, рН 8,4 (25⁰С), 2мМ MgCl₂, 0,03 % Tween-20, 0,2 мМ кожного dNTP, 0,25 мкМ праймера. Суміш об'ємом 25 мкл вміщувала 40–50 нг ДНК і 1 од. Таq-полімерази. Температурний режим ампліфікації такий: початкова денатурація – 5 хв при 95⁰С; 35 циклів: денатурація – 15 с при 94⁰С; відпалювання праймерів – 20 с 60⁰С (для пар праймерів до STS маркера *csLV34*); елонгація – 30 с при 72⁰С, фінальна елонгація – 2 хв при 72⁰С. Для маркування гена *Lr13* використовували мікросателітні локуси *Xbarc13*, *Xbarc55*, *Xgwm148*, *Xwmc261*, *Xgwm271*, *Xwmc272*, *Xwmc344*, *Xbarc361*, *Xgwm410*, *Xwmc474*, *Xwmc477* і *Xgwm630*. Послідовності пар праймерів й умови проведення ПЛР з парами праймерів до вище зазначених локусів наведено у базі даних <http://wheat.pw.usda.gov>.

Продукти ПЛР-ампліфікації фракціонували в 10 % неденатуруючому поліакриламідному гелі в 1xTBE-буфері (89,0 мМ Трис, 89,0 мМ борна кислота, 2,0 мМ Na₃EDTA) за постійної напруги 450 В 1,5–2 години залежно від довжини фрагментів ампліфікації. Візуалізацію продуктів електрофоретичного розподілу проводили імпрегнуванням гелів нітратом срібла. Калібрування молекулярної маси отриманих ампліконів здійснювали з використанням стандарту *pUC19/MspI* та 20 bp DNA Ladder.

Розвиток бурі листкової іржі пшениці в польових умовах вивчали на дорослих рослинах у природному інфекційному фоні на Півдні України (м. Одеса, поля СГІ-НЦНС) у 2013, 2014 і 2015 рр. (ізогенні лінії та сорт Thatcher), у 2014 р. (гібриди F₁), у 2015 р. (гібридна популяція F₂). Розвиток хвороби вивчали з моменту появи пустул (травень) до відмирання листя (липень). Інтенсивність ураження визначали за інтегрованою 9-бальною шкалою оцінок стійкості зернових колосових культур збудниками іржі: 1 – дуже висока чутливість, 2 – висока чутливість, 3–4 – чутливість, 5 – помірна чутливість, 6 – помірна стійкість, 7 – стійкість, 8 – висока стійкість, 9 – дуже висока стійкість [6]. Як контроль чутливості використовували сорт Thatcher.

Статистичну обробку результатів проводили за загальноприйнятими методиками.

Результати та обговорення

Як зазначалося вище, ген *Lr13* більше не є ефективним сам по собі, проте комбінація *Lr13* з іншими *Lr* генами, такими як *Lr34*, забезпечує польову стійкість пшениці. Кожен сорт є окремою комбінацією з декількох генів не завжди визначених, тому важко оцінити вплив саме гену *Lr13* на стійкість до бурої листкової іржі в комбінації з іншими генами, і тим більше ще складнішим є завдання з виявлення надійних маркерів, зчеплених саме з геном *Lr13*. До того ж на короткому плечі хромосоми 2В, крім гену *Lr13*, знаходяться також гени *Lr16* і *Lr23*. Тому з метою виявлення надійних маркерів саме до *Lr13* до досліджень були залучені майже ізогенні лінії сорту Thatcher, що утримували лише один *Lr* ген, а саме лінії TcLr13 (ген *Lr13*), TcLr16 (*Lr16*), TcLr23 (*Lr23*) і TcLr34 (*Lr34*). Маркер буде специфічним лише в тому випадку, якщо певний алель (продукт ампліфікації) виявлятиметься лише у лінії TcLr13 і не виявлятиметься в інших майже ізогенних ліній Thatcher.

Для того щоб виявити ефекти гену *Lr13* окремо і в комбінації з геном *Lr34* було створено популяцію F₂ TcLr13 x TcLr34.

На першому етапі роботи було проведено ПЛР-аналіз сортів-носіїв гену *Lr13* і майже ізогенних ліній сорту Thatcher з генами стійкості до бурої листкової іржі *Lr13* (TcLr13), *Lr16* (TcLr16) і *Lr23* (TcLr23) з парою праймерів до локусу *Xgwm630*, який за даними Seyfarth et al. [12] є зчепленим з *Lr13*. Маркер *Xgwm630* є домінантним. Проте маркерного фрагмента 123 п. н., який вказує на присутність гену *Lr13*, у деяких сортів-носіїв цього гену не було виявлено. До того ж цей маркерний фрагмент детектувався у лінії-носія гену *Lr16* TcLr16 і у лінії-носія гену *Lr23* TcLr23, що вказує на неспецифічність й не достатньо щільне зчеплення локусу *Xgwm630* з геном *Lr13* (табл. 1).

З літературних джерел відомо, що ген стійкості до листкової іржі *Lr13* зчеплений з алелем гену гібридного некрозу *Ne2^m* [13]. Мікросателітний маркер *Xbarc55* використовують для ідентифікації алелів гену гібридного некрозу *Ne2* [14]. У наших дослідженнях по визначенню відповідності різних алелів локусу *Xbarc55* певним за силою алелям гену *Ne2* показано, що пара праймерів до локусу *Xbarc55* не дозволяє диференціювати сорти-носії алелів *Ne2^w* і *Ne2^m* між собою [15]. ПЛР-аналіз з парою праймерів до локусу *Xbarc55* не виявив полі-

морфізму між майже ізогенними лініями сорту Thatcher TcLr13, TcLr16 і TcLr23, що свідчить про неможливість використання локусу *Xbarc55* як маркера до гену *Lr13* (табл. 1).

Для пошуку кодомінантних молекулярних маркерів щільно зчеплених з геном *Lr13* використовували мікросателітні локуси *Xbarc13*, *Xgwm148*, *Xwmc261*, *Xgwm271*, *Xwmc272*, *Xwmc344*, *Xbarc361*, *Xgwm410*, *Xwmc474* і *Xwmc477*, які локалізовані у прицентромірній області короткого плеча хромосоми 2В. За локусами *Xbarc361*, *Xgwm271*, *Xgwm410*, *Xwmc261* не виявлено поліморфізму серед досліджених ліній і сортів. Локуси *Xbarc55*, *Xwmc272* і *Xwmc474* не виявляли поліморфізму між майже ізогенними лініями сорту Thatcher, що є носіями генів *Lr13*, *Lr16* і *Lr23* (табл. 1), й відповідно не можуть використовуватись як маркери до гену *Lr13*. За локусами *Xbarc13* і *Xwmc477* лінія TcLr13 відрізнялась від ліній TcLr34, TcLr16 й TcLr23. Проте алель локусу *Xbarc13* розміром 148 п. н., властивий для лінії TcLr13, не виявлявся у сортів-носіїв гену *Lr13*. Для локусу *Xwmc477* продукт ампліфікації 190 п. н., характерний для лінії TcLr13, було виявлено лише у двох з п'яти сортів, які є носіями гену *Lr13*.

За локусами *Xgwm148* і *Xwmc344* виявлено поліморфізм між майже ізогенною лінією TcLr13 й лініями TcLr16, TcLr23, TcLr34. Алель локусу *Xgwm148* розміром 162 п. н., властивий лінії TcLr13, виявлявся у трьох сортів-носіїв *Lr13*, а алель локусу *Xwmc344* розміром 232 п. н. виявлено у всіх п'яти сортів, що є носіями гену стійкості *Lr13*. Тому саме ці два мікросателітні локуси було обрано як потенційні маркери до гену стійкості до бурої листкової іржі *Lr13*.

Для перевірки маркуючої здатності локусів *Xgwm148* і *Xwmc344* використовували популяцію F₂, яка отримана від схрещування двох майже ізогенних ліній сорту Thatcher з генами стійкості до листкової іржі *Lr13* (TcLr13) і *Lr34* (TcLr34). Проведено оцінку польової стійкості до бурої листкової іржі батьківських ліній (у 2012–2015 рр.), популяції F₁ (у 2014 році) і популяції F₂ (у 2015 році). Показано, що стійкість лінії TcLr13 у різні роки варіювала від 2 до 4 балів, TcLr34 – від 4 до 5 балів, рослини популяції F₁ мали стійкість від 5 до 6 балів, стійкість окремих рослин популяції F₂ варіювала від 3 до 6 балів (табл. 2). З 76 рослин популяції F₂ 40 рослин мали стійкість на рівні 6 балів, а 36 рослин мали стійкість на рівні від 3 до 5 балів.

Таблиця 1. Результати генотипування сортів і ліній пшениці м'якої

Сорт, лінія	Локус							
	<i>Xgwm630</i>	<i>Xbarc55</i>	<i>Xwmc344</i>	<i>Xbarc13</i>	<i>Xwmc272</i>	<i>Xwmc474</i>	<i>Xgwm148</i>	<i>Xwmc477</i>
	Алель, п. н.							
TcLr13	123	136	232	148	150	130	162	190
TcLr16	123	136	236	150	150	130	174	188
TcLr23	123	136	236	150	150	130	174	188
TcLr34	null*	136	236	150	150	130	174	188
Kenya Farmer (<i>Lr13</i>)	null	132	232	150	146	128	162	194
Kenya Anisfer (<i>Lr13</i>)	null	132	232	146	146	128	162	190
Jagger (<i>Lr13</i>)	123	126	232	150	148	130	148	196
Frontana (<i>Lr13</i>)	null	136	232	146	148	126	174	188
Lee (<i>Lr13</i>)	123	126	232	150	146	126	162	190

Примітка. * null – відсутність продукту ампліфікації.

Можна припустити, що до першої групи з 40 рослин популяції F₂ зі стійкістю 6 балів входять генотипи з комбінацією генів *Lr13+Lr34* у гомозиготному або гетерозиготному стані, а до другої групи з 36 рослин зі стійкістю 3–5 балів входять генотипи *Lr13+lr34*, *lr13+Lr34* і *lr13+lr34*.

При порівнянні даних генотипування гібридів F₂ TcLr13 x TcLr34 за молекулярними маркерами *Xgwm148* (*Lr13*) і *csLV34* (*Lr34*) й

фенотипового прояву стійкості до бурої листкової іржі визначили, що в першу групу рослин популяції F₂, яка мала стійкість на рівні 6 балів, входять 40 генотипів які мають комбінацію генів *Lr13+Lr34* у гомозиготному і гетерозиготному стані. Три рослини, які мають комбінацію генів *Lr13+Lr34* увійшли у другу групу рослин популяції F₂ і мали стійкість на рівні 5 балів (табл. 3).

Таблиця 2. Розщеплення гібридної популяції F₂ TcLr13 x TcLr34 за ступенем стійкості й чутливості до збудника бурої листкової іржі

Гібридна комбінація	Оцінка стійкості гібридів F ₁	Кількість рослин F ₂	Розщеплення за ступенем стійкості та чутливості		
			Фактично одержане, кількість рослин (бал)	Теоретично очікуване	χ^2
TcLr13 x TcLr34	5 - 6	76	40 (6) : 36 (3-5)	9 : 7	0,48

Таблиця 3. Розщеплення гібридної популяції F₂ TcLr13 x TcLr34 за молекулярними маркерами *Xgwm148* (*Lr13*) і *csLV34* (*Lr34*)

Гібридна комбінація	Кількість рослин F ₂	Розщеплення за <i>Lr</i> генами		
		Фактично одержане	Теоретично очікуване	χ^2
TcLr13 x TcLr34	76	43 (<i>Lr13+Lr34</i>) : 15 (<i>Lr13+lr34</i>) : 13 (<i>lr13+Lr34</i>) : 5 (<i>lr13+lr34</i>)	9 : 3 : 3 : 1	0,14

При порівнянні даних генотипування гібридів F_2 *TcLr13* x *TcLr34* за молекулярними маркерами *Xwmc344* (*Lr13*) і *csLV34* (*Lr34*) й фенотипового прояву стійкості до бурої листової іржі визначили, що в першу групу з 40 рослин популяції F_2 , яка мала стійкість на рівні 6 балів, входять 39 генотипів, які мають комбінацію генів *Lr13+Lr34* у гомозиготному і гетерозиготному стіні й один генотип, який має комбінацію генів *lr13+Lr34* (табл. 4).

При порівнянні даних генотипування гібридів F_2 і фенотипового прояву стійкості до бурої листової іржі визначили, що мікросателітний локус *Xwmc344* є близько зчепленим з ге-

ном *Lr13* і може використовуватись як надійний маркер.

Висновки

Проведено дослідження майже ізогенних ліній сорту Thatcher, сортів-носіїв гена *Lr13* і F_2 популяції *TcLr13* x *TcLr34* за стійкістю до бурої листової іржі й за мікросателітними локусами, які розташовані на короткому плечі 2В хромосоми. Виявлено локус *Xwmc344*, який є близько зчепленим з геном *Lr13* і може використовуватись як надійний маркер до зазначеного гена. Алель локусу *Xwmc344* розміром 232 п. н. свідчить про наявність домінантного алеля гена *Lr13*.

Таблиця 4. Розщеплення гібридної популяції F_2 *TcLr13* x *TcLr34* за молекулярними маркерами *Xwmc344* (*Lr13*) та *csLV34* (*Lr34*)

Гібридна комбінація	Кількість рослин F_2	Розщеплення за <i>Lr</i> генами		
		Фактично одержане	Теоретично очікуване	χ^2
<i>TcLr13</i> x <i>TcLr34</i>	76	39 (<i>Lr13+Lr34</i>) : 15 (<i>Lr13+lr34</i>) : 17 (<i>lr13+Lr34</i>) : 5 (<i>lr13+lr34</i>)	9 : 3 : 3 : 1	1,08

References

- Golosna L., Afanasieva O., Lisova G., Kucherova L. Isolation of sources of resistance of winter wheat samples to the group of pathogens as a component of immunological protection of plants. *Interdepartmental Thematic Scientific Collection of Phytosanitary Safety*. 2017. (63). P. 42–50. doi: 10.36495/1606-9773.2017.63.42-50.
- McDonald B. A., Linde C. C. Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annual Review of Phytopathology*. 2002. Vol. 40 (1). P. 349–379. doi: 10.1146/annurev.phyto.40.120501.101443.
- Lillemo M., Singh R. P., William M., Lagudah E. S. Multiple rust resistance and gene additivity in wheat: lessons from multi-location case studies in the cultivars Parula and Saar. *Global Rust Initiative Meeting, St. Paul*. 2011. P. 111–120.
- Kolmer J. A. Genetics of resistance to wheat leaf rust. *Annu. Rev. Phytopathol.* 1996. Vol. 34. P. 435–455. doi: 10.1146/annurev.phyto.34.1.435.
- Rajaram S., Singh R. P., Torres E. Current approaches in breeding wheat for rust resistance. In: Symmonds, N.W. and Rajaram, S., Eds., *Breeding Strategies for Resistance to Rusts of Wheat*. CIMMYT, Mexico. 1988. P. 101–118.
- Babayants L., Gorash A., Vasilev A., Traskovetskaya V., Galaev A. Physiologic specialization of *Puccinia triticina* Erikss. and effectiveness of *Lr*-genes in the south of Ukraine during 2013-2014. *Chilean Journal of agricultural research*. 2015. Vol. 75, № 4. P. 443–450. doi: 10.4067/S0718-58392015000500009.
- Lisova H. Effectiveness of known wheat resistance genestriticum aestivum L. to *Puccinia triticina* Eriks. leaf rust of wheat in 2019-2020. *NaUKMA Research Papers. Biology and Ecology*. 2023. Vol. 6. P. 17–26. doi: 10.18523/2617-4529.2023.6.17-26. [in Ukrainian]
- Singh R. P., Rajaram S. Resistance to *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* in 50 Mexican bread wheat cultivars. *Crop Science*. 1991. Vol. 31. P. 1472–1479.
- Yuan H. J., Chen W. Q. Estimate on the Effectiveness of Main Resistant Genes for Leaf Rust in Chinese Wheat. *Journal of Triticeae Crops*. 2011. Vol. 31. P. 994–999. doi: 10.1016/S2095-3119(14)60964-3.
- Kloppers F. J., Pretorius Z. A. Effects of combinations amongst genes *Lr13*, *Lr34* and *Lr37* on components of resistance in wheat to leaf rust. *British Society for Plant Pathology*. 2009. Vol. 46, № 5. P. 737–750. doi: 10.1046/j.1365-3059.1997.d01-58.x.
- Galaev A. V., Sivolap Yu. M. Description of the bread wheat varieties of Ukrainian and Russian breeding by alleles of locus *csLV34* closely linked with multipathogen resistance gene *Lr34/Yr18/Pm38*. *Cytology and Genetics*. Vol. 49. P. 12–18. doi: 10.3103/S0095452715010041.
- Seyfarth R., Feuillet C., Schachermayr G., Messmer M., Winzeler M., Keller B. Molecular mapping of the adult-plant rust resistance gene *Lr13* in wheat (*Triticum aestivum* L.). *J Genet Breeding*. 2000. Vol. 54. P. 193–198.

13. Zhang P., Hiebert C. W., McIntosh R. A., McCallum B. D., Thomas J. B., Hoxha S. The relationship of leaf rust resistance gene *Lr13* and hybrid necrosis gene *Ne2m* on wheat chromosome 2BS. *Theor. Appl. Genet.* 2016. Vol. 129. P. 485–493. doi: 10.1007/s00122-015-2642-6.
14. Chu C.-G., Faris J. D., Friesen T. L., Xu S. S. Molecular mapping of hybrid necrosis genes *Ne1* and *Ne2* in hexaploid wheat using microsatellite markers. *Theor. Appl. Genet.* 2006. Vol. 112. P. 1374–1381. doi: 10.1007/s00122-006-0239-9.
15. Galaiev O. V. Identification and distribution of alleles of hybrid necrosis gene *Ne2* in soft wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.). *Agricultural Science and Practice.* 2016. Vol. 3, № 3. P. 22–27. doi: 10.15407/agrisp3.03.022.

HALAIEV O. V., HALAIEVA M. V.

Plant Breeding and Genetic Institute – National Center of Seed and Cultivar Investigation, National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Ukraine, 65036, Odesa, Ovidiopolska Doroha, 3

IDENTIFICATION OF MOLECULAR MARKERS LINKED TO LEAF RUST RESISTANCE GENE *LR13* IN WHEAT

Aim. Identification of codominant molecular markers closely linked to the *Lr13* leaf rust resistance gene. **Methods.** PCR with detection in a polyacrylamide gel. Hybridological analysis. Phytopathology evaluation. Statistical analysis. **Results.** PCR analysis of varieties carrying the *Lr13* gene and near-isogenic lines of the Thatcher variety with genes for resistance to leaf rust *Lr13* (TcLr13), *Lr16* (TcLr16), *Lr23* (TcLr23) and the F2 population TcLr13 x TcLr34 by the microsatellite loci *Xbarc13*, *Xbarc55*, *Xgwm148*, *Xwmc261*, *Xgwm271*, *Xwmc272*, *Xwmc344*, *Xbarc361*, *Xgwm410*, *Xwmc474*, *Xwmc477* and *Xgwm630* was performed. To test the two microsatellite loci *Xgwm148* and *Xwmc344* as candidate markers for the *Lr13* gene, we used the F2 population, which was obtained from crossing two near-isogenic lines of the Thatcher variety with leaf rust resistance genes *Lr13* (TcLr13) and *Lr34* (TcLr34). **Conclusions.** When comparing the genotyping data of F2 hybrids and the phenotypic manifestation of resistance to leaf rust, it was determined that the microsatellite locus *Xwmc344* is closely linked to the *Lr13* gene.

Keywords: bread wheat (*Triticum aestivum* L.), near-isogenic lines, leaf rust, *Lr13*, microsatellite markers.