

УДК 575+577.1: 633.1

## СТВОРЕННЯ ОЗИМИХ ЛІНІЙ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ З ГЕНОМ СТІЙКОСТІ ДО СТЕБЛОВОЇ ІРЖІ *Sr33*

Н.О. КОЗУБ<sup>1,2\*</sup>, Я.В. ПІРКО<sup>1\*</sup>, І.О. СОЗІНОВ<sup>2</sup>, А.В. КАРЕЛОВ<sup>1</sup>,  
О.І. СОЗІНОВА<sup>1,2</sup>, Б.В. ІВАЩУК<sup>1</sup>, Дж. ФЕДАК<sup>3\*</sup>, А.І. ЄМЕЦЬ<sup>1\*</sup>, Я.Б. БЛЮМ<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> ДУ «Інститут харчової біотехнології і геноміки НАН України», вул. Байди-Вишневецького, 2а, Київ, 04123, Україна

<sup>2</sup> Інститут захисту рослин НААН, вул. Васильківська, 33, Київ, 03022, Україна

<sup>3</sup> Eastern Cereal and Oilseed Research Centre, Agriculture and AgriFood Canada, Ottawa, Ontario, K1A 0C6, Canada

E-mail: natalkozub@gmail.com\*; yarvp1@gmail.com; george.fedak@AGR.GC.CA; yemets.alla@gmail.com; cellbio@cellbio.freenet.viaduk.net

Стеблова іржа, збудником якої є гриб *Puccinia graminis* Pers. — небезпечна хвороба пшениці, що зустрічається в усіх регіонах її вирощування. Останні десятиліття характеризуються виникненням нових високовірулентних рас, що призводять до значних втрат урожаю пшениці. Одним із генів, що забезпечує стійкість до більшості рас стеблової іржі, включно з Ug99, є ген *Sr33* від *Aegilops tauschii*. Для створення озимих ліній пшениці м'якої з геном *Sr33* і визначення можливого впливу гена на ознаки продуктивності проведено схрещування лінії ярої пшениці DH31, яка є носієм гена *Sr33*, та озимого сорту Мирхад з наступним маркерним доббором озимих генотипів з цим геном, починаючи з F<sub>3</sub>. Для ідентифікації гена *Sr33* використовували ПЛР з ген-специфічними праймерами *Sr33A*. Алелі локусів запасних білків батьківських форм визначали за допомогою електрофорезу в кислому середовищі та SDS-електрофорезу, а також з використанням молекулярного маркера *MAR* для *Glu-B1a*. Шляхом маркерного доббору створено озимі лінії F<sub>3</sub> з геном *Sr33* від схрещування DH31 × Мирхад. Було проаналізовано ознаки продуктивності колосів F<sub>3</sub> з родин, що походять від окремих колосів F<sub>3</sub> з геном *Sr33* і без нього, враховуючи те, що лінія DH31 має специфічний алель *Gli-D1* від *Ae. tauschii*, темний колір колоскових лусок та алелі локусів високомолекулярних субодиниць глютенінів, пов'язані з високою силою тіста, зокрема *Glu-B1a*. Порівняння середніх значень ознак продуктивності для колосів з родин з геном *Sr33* та без нього не виявило істотних відмінностей між цими двома групами. Результати проведеної оцінки ознак продуктивності колоса дозволяють припустити, що присутність гена

*Sr33* не справляє негативного ефекту на урожайність отриманих ліній. Таким чином, лінії F<sub>3</sub> з геном *Sr33* від схрещування DH31 × Мирхад можуть бути використані у селекційній роботі для створення сортів озимої пшениці зі стійкістю до стеблової іржі та високими хлібопекарськими властивостями борошна.

**Ключові слова:** пшениця, *Puccinia graminis*, раса Ug99, стійкість до стеблової іржі, ген *Sr33*, маркерний добір, селекційні лінії, м'яка озима пшениця.

**Вступ.** Стеблова іржа, збудником якої є дводомний гриб *Puccinia graminis* Pers. — небезпечна хвороба пшениці, втрати від якої можуть становити до 50 % (McIntosh et al, 1995; Leonard et al, 2005; Loughman et al, 2005). Гриби цього виду зустрічаються в усьому світі, а гени стійкості до них (умовне позначення — *Sr*) є поширеними у світовому генофонді пшениці (McIntosh et al, 1995; Karelov et al, 2022). З огляду на особливості розвитку збудника стеблової іржі, а також його високу мутабільність постійно виникають високовірулентні раси, які призводять до значних локальних втрат урожаю пшениці (Leonard et al, 2005; Stokstad 2007; Singh et al, 2011; Olivera et al, 2015, 2019, 2022a, 2022b; Patpour et al, 2022). Наприклад, це вперше зафіксована в Уганді в 1999 р. раса Ug99 (TTKSK) (Pretorius et al, 2000) та похідні від неї раси, зокрема, TTCTK, що поширились східним узбережжям Африки в 2014–2015 рр. (Patpour et al, 2016) і була знайдена вже в Іраку в 2019 р. (Nazari et al, 2021); раса TTRTF, що виникла в Грузії та поширилась на Сицилію,

де у 2016 р. викликала значні втрати урожаю (Olivera et al, 2019).

Гени стійкості до стеблової іржі інтенсивно впроваджувались у селекцію пшениці, але більшість з них так і не забезпечили стійкості нових сортів до поширених на сьогодні найбільш шкодочинних рас стеблової іржі (McIntosh et al, 1995; Karelov et al, 2022). Втрату ефективності расоспецифічних генів стійкості пшениці, зокрема тих, що походять із генофонду пшениці м'якої, пов'язують саме з їх розповсюдженістю і створенням додаткового еволюційного тиску на шкодочинника, що призводило до виникнення рас, вірулентних до цих генів (McDonald and Linde, 2002, Karelov et al, 2022). Нові раси *P. graminis* не долають ані власні, ані інтрогресовані гени помірної расонеспецифічної стійкості, проте ці гени самі по собі не забезпечують задовільний рівень відповіді на ураження стебловою іржею (Aktar-Uz-Zaman et al, 2017). Інтрогресовані расоспецифічні гени надають достатньо високий рівень стійкості до більшості поширених у світі рас стеблової іржі (McIntosh et al, 1995; Karelov et al, 2022), проте інтрогресії, в складі яких перенесено гени інтересу, часто є носіями і тих генів, що негативно впливають на врожайність, якість борошна та інші сільськогосподарські ознаки (The et al, 1988; Brown 2002, Zhang et al, 2005; Olson et al, 2010).

Одним із генів, що забезпечує стійкість до більшості поширених рас стеблової іржі, включно з Ug99, є ген *Sr33* (McIntosh et al, 1995; Karelov et al, 2022;). Єдиним на даний час відомим винятком є іспанська раса ТКНВК (Olivera et al, 2022b). Ген *Sr33* було перенесено на хромосому 1DS пшениці м'якої від дикого родича *Aegilops tauschii* Cross. (геномна формула DD) (Kerber, Dyck, 1979; Jones et al, 1990, 1991). Було визначено, що цей ген забезпечує суттєво вищий рівень стійкості, знаходячись у диплоїдних злаків (*Ae. tauschii*), тоді як у пшениці м'якої рівень расоспецифічної стійкості дорослих рослин визначається як помірна стійкість – помірна чутливість у випадку особливо шкодочинних рас (Jin et al, 2007). Дослідження експресії цього гена показало, що він діє за принципом інших класифікованих R-генів расоспецифічної стійкості до біотрофних фітопатогенів, призводячи до форсо-

ваної клітинної смерті, яка покликана попередити розповсюдження хвороби та позбавити паразитичний організм поживних речовин (Sesaris et al, 2016).

Було проведено клонування *Sr33* та супутніх генів (позначені як *AetRGA1a-d*, *AetRGA2a*, *AetRGA3a*) (Periyannan et al, 2013). Ген *Sr33* має 6 екзонів, а його білковий продукт передбачувано стандартну для факторів ювенільної стійкості структуру, яка характеризується наявністю домена сайтів зв'язування нуклеотидів (nucleotide-binding sites, NBS), N-термінального надспіралізованого (N-terminal coiled-coil, CC) та C-термінального багатого на лейцинові повтори (C-terminal leucine-rich repeat, LRR) доменів (Casey et al, 2016). Білок SR33 є гомологічним до протеїну MLA34 ячменю, що забезпечує стійкість до борошнистої роси (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*), та TmMLA – MLA-подібного протеїну *T. monococtum* (рівень гомології в обох випадках – 86 %), в той час, як подібність його до раніше визначених білків стійкості пшениці LR1, LR10 та LR21 є достатньо низькою (Periyannan et al, 2013). Також було встановлено, що протеїн SR33 на відміну від гомологів не потребує для функціонування білків-шаперонів (Casey et al, 2016).

Для ідентифікації гена *Sr33* було запропоновано використовувати молекулярні маркери – як мікросателіти *Xbarc152* та *Xcfd15* (Sambasivam et al, 2008), так і прямі маркери SR33-R/F (Periyannan et al, 2013). За послідовністю гена *Sr33*, яка є доступною у відкритих базах даних нуклеотидних послідовностей (NCBI), було запропоновано маркер *Sr33A*, що фланкується праймерами *Sr33-A1/A2* (Ivashchuk et al, 2018). Ген *Sr33* залишається важливим геном для забезпечення стійкості проти стеблової іржі в різних регіонах світу, особливо у комбінації з расонеспецифічними генами стійкості (Ayliffe et al, 2013, Periyannan et al, 2013, Zhang et al, 2019, Wu et al, 2020, 2023). Тому метою даної роботи було створення озимих ліній пшениці з геном стійкості до стеблової іржі *Sr33* з використанням маркерного відбору та визначення можливого впливу цього гена на ознаки продуктивності колоса.

**Матеріали та методи.** Для створення озимих ліній пшениці м'якої з геном *Sr33* вихідною батьківською формою був озимий сорт Мир-

хад, а як джерело гена стійкості *Sr33* було використано канадську яру лінію пшениці DH31. Схему створення озимих ліній F<sub>5</sub> від схрещення DH31 × Мирхад наведено на рис. 1. Рослини вирощували на дослідній ділянці у с. Гатне Київської області. Як позитивний контроль для молекулярної ідентифікації гена *Sr33* використовували ДНК з лінії DK20.

ДНК виділяли з проростків пшениці за допомогою ЦТАБ методу згідно до стандартного протоколу або із зерна за допомогою набору NeoPrep\_100 (Неоген™, Україна), що базується на використанні силіки. З окремих колосів покоління F<sub>3</sub>–F<sub>5</sub> аналізували суміш 3-х зерен.

Для ідентифікації алелів гена *Sr33* використовували молекулярний маркер *Sr33A* (Ivashchuk et al, 2018). Для ПЛР застосовували праймери з наступними послідовностями: *Sr33-A1* – 5'-gccagtaatttctgaaatattgtatttaa-3', *Sr33-A2* – 5'-tcaaatattacaatggtaggtgcatc-3'. ПЛР проводили за таких умов: початкова денатурація: 95 °C – 3 хв; 32 цикли: 95 °C – 30 с, 61 °C – 30 с, 72 °C – 60 с, фінальна елонгація: 72 °C – 7 хв. Довжина очікуваного продукту при наявності алеля стійкості *Sr33* складала 254 п.н. Продукти ПЛР розділяли за допомогою електрофорезу в 2%-ному агарозному гелі з фарбуванням бромистим етидієм. Як маркер довжини фрагментів використовували 100 bp DNA Ladder («Solis BioDyne», Естонія).

Для характеристики батьківських форм за локусами запасних білків проводили електрофорез гліадинів у кислому середовищі в поліакриламідному гелі за методикою Kozub et al (2009) та SDS-електрофорез загального білку за Laemmli (1970). Для ідентифікації алелів гліадинових локусів використовували каталог Metakovsky et al (2018), високомолекулярних субодиниць глютенінів – Payne and Lawrence (1983) з доповненнями Wrigley et al, (2009). Як сорт-стандарт для порівняння блоків запасних білків використовували сорт пшениці Безоста 1. Для уточнення присутності алеля *Glu-B1a1* застосовували молекулярний маркер MAR (Butow et al, 2004): прямий 5'-cctcagcatgcaaacatg-cagc-3', зворотній 5'-ctgaaaccttggccagtcatgtc-3', умови ПЛР: початкова денатурація: 95 °C – 12 хв; 38 циклів: 95 °C – 30 с, 58 °C – 30 с, 72 °C – 60 с, фінальна елонгація: 72 °C – 7 хв. Довжина очікуваного продукту при наявності алеля *Glu-*

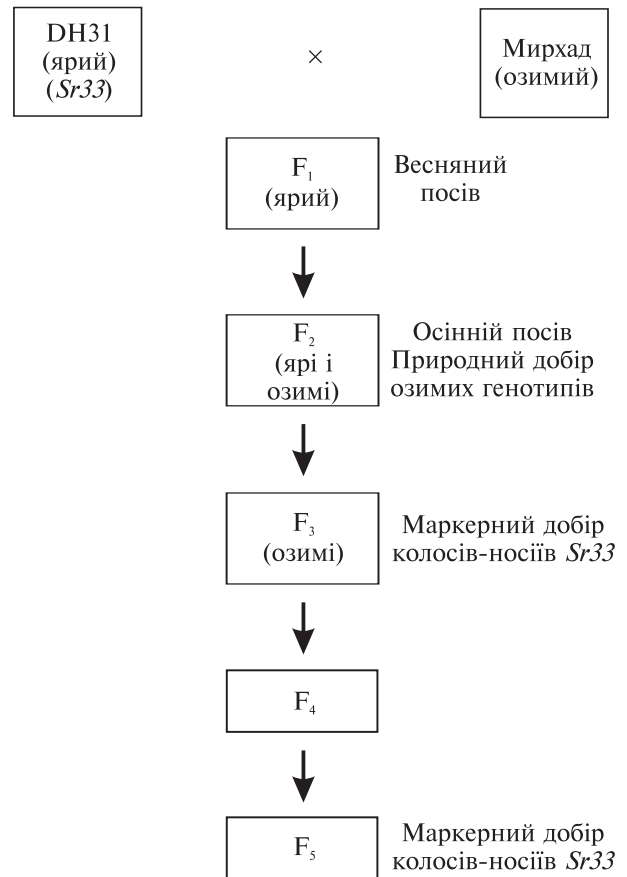
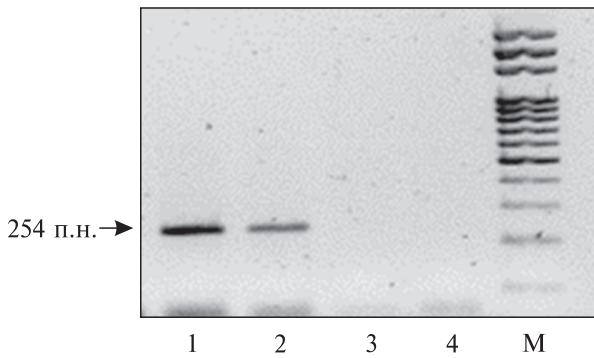


Рис. 1. Схема створення озимих ліній пшениці м'якої з геном *Sr33* від схрещування DH31 × Мирхад

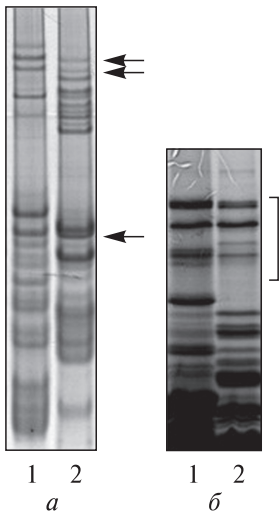
*B1a1* складає 563 п.н., тоді як для алелів *Glu-B1b* та *Glu-B1u* має ампліфікуватись фрагмент завдовжки 520 п.н. Як сорти-стандарт використовували сорт Панна з алелем *Glu-B1a1*, Chinese Spring з *Glu-B1b*, Одеська 267 з *Glu-B1u*.

Аналізували ознаки продуктивності 213 колосів F<sub>5</sub> з родин, що походять від окремих колосів F<sub>3</sub> з наявністю гена *Sr33* і без нього: кількість колосків з колоса, кількість зерен з колоса, маса зерна з колоса, маса 1000 зерен, кількість зерен з колоска, маса зерна з колоска. Порівнювали середні значення для колосів з родин, що не розщеплюються в F<sub>5</sub> за присутністю маркера (113 колосів з таких родин з геном *Sr33*) та без нього (45). Для порівняння середніх значень використовували критерій Стьюдента.

**Результати та обговорення.** Ідентифікацію гена *Sr33* і маркерний добір озимих ліній пше-



**Рис. 2.** Продукти ПЛР з праймерами, що фланкують маркер *Sr33A*, та ДНК ліній DK20 (1) і DH31 (2) і сорту Мирхад (3, 4), М – маркер (100 bp DNA Ladder)



**Рис. 3.** Запасні білки лінії DH31 (2) та сорту-стандарту Безоста 1 (1). *а* – електрофорез гліадинів у кислому середовищі, стрілками показано гліадини DH31, кодовані *Gli-D1*, *б* – SDS-електрофорез загального білка, дужкою позначено зону високомолекулярних субодиниць глютенінів

**Таблиця 1.** Характеристика батьківських генотипів за геном *Sr33*, локусами запасних білків та кольором колоскових лусок

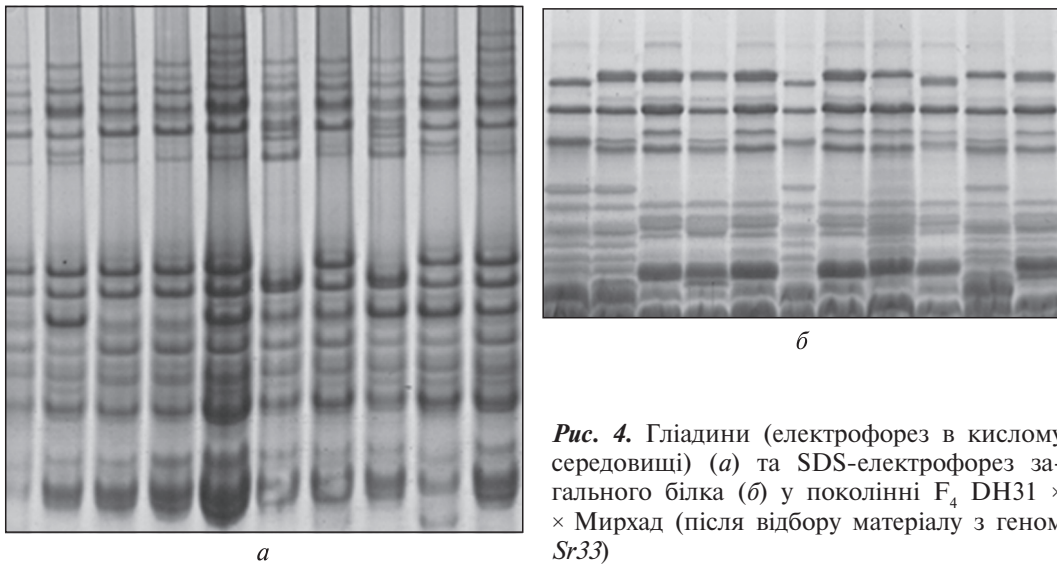
Локус, ознака	DH31	Мирхад
<i>Sr33</i>	<i>R</i>	<i>S</i>
<i>Gli-A1</i>	<i>m</i>	<i>o</i>
<i>Gli-B1</i>	<i>d</i>	<i>f</i>
<i>Gli-D1</i>	<i>tauschii</i>	<i>g</i>
<i>Glu-A1</i>	<i>b</i>	<i>c</i>
<i>Glu-B1</i>	<i>al</i>	<i>c</i>
<i>Glu-D1</i>	<i>d</i>	<i>a</i>
Колір колоскових лусок	темний	світлий

ниці здійснювали за допомогою кодомінантного молекулярного маркера *Sr33A*, який був розроблений на основі аналізу баз даних послідовностей NCBI (Ivashchuk et al, 2018). Для створення озимих ліній пшениці м'якої як джерело гена *Sr33* використано яру лінію DH31, яку було схрещено з пізньостиглим озимим сортом Мирхад. Лінія DH31, як і лінія DK20, дає амплікон довжиною в 254 п.н. з маркером *Sr33A*, тоді як у сорту Мирхад продукти ампліфікації відсутні (рис. 2).

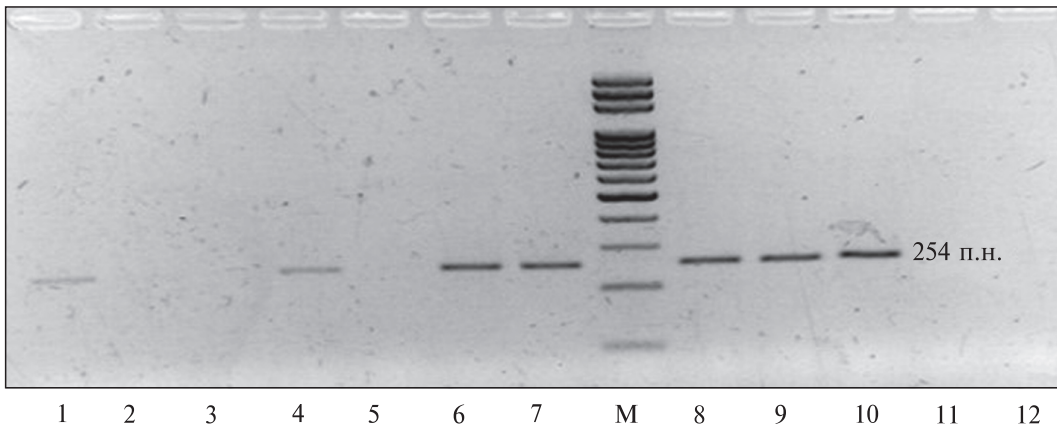
За допомогою електрофорезу білків зерна охарактеризовано алелі за локусами *Gli-1* та *Glu-1* лінії DH31 (табл. 1). У лінії DH31 ідентифіковано розповсюджені алелі *Gli-A1m*, *Gli-B1d*, проте за локусом *Gli-D1* ця лінія має алель, що кодує блок компонентів, який не зустрічається серед сортів пшениці м'якої (Metakovsky et al, 2018) і, очевидно, походить від *Ae. tauschii* (рис. 3). Спектр омега-гліадинів, контрольованих *Gli-D1*, лінії DH31 є подібним до спектру лінії DSTt5406(CS1D), наведеному в статтях Jones et al, (1990, 1991).

Результати електрофоретичного аналізу високомолекулярних субодиниць глютенінів вказують на те, що лінія DH31 має алель *Glu-B1al*, пов'язаний з високою силою тіста (рис. 3, б). Присутність цього алеля підтверджено ПЛР-аналізом з маркером MAR (Butow et al, 2004). DH31 також несе інші алелі, що визначають високий рівень хлібопекарної якості – *Glu-D1d* та *Glu-A1b* (табл. 1). Лінія DH31 відрізняється від сорту Мирхад за мажорними гліадиновими локусами хромосом 1 гомеологічної групи та локусами високомолекулярних субодиниць глютенінів, тому досліджуваний гібридний матеріал від схрещення DH31 × Мирхад розщеплюється за цими локусами (рис. 4). Крім цього, колоскові луски у лінії DH31 мають темний (темно-коричневий) колір, що, ймовірно, контролюється алелем *Rg-D1b*.

За допомогою маркера *Sr33A* було ідентифіковано носіїв гена *Sr33* при аналізі ДНК суміші зерен з колосів  $F_3$  DH31 × Мирхад. Згодом аналогічне тестування насіння було проведено у поколінні  $F_5$  (рис. 5). Таким чином, було валідовано маркер *Sr33A* як достатньо зручний для виявлення присутності послідовності, асоційованої з геном *Sr33* і, як наслідок, відібрано лінії  $F_5$  з геном *Sr33*.



**Рис. 4.** Гліадини (електрофорез в кислому середовищі) (а) та SDS-електрофорез загального білка (б) у поколінні F<sub>4</sub> DH31 × Мирхад (після відбору матеріалу з геном *Sr33*)



**Рис. 5.** Продукти ПЛР з праймерами, що фланкують маркер *Sr33A*, та ДНК суміші 3 зерен з колосів F<sub>5</sub> від схрещування DH31 × Мирхад. 1, 4, 6, 7, 8, 9 – лінії із геном *Sr33*; 10 – лінія DH31, що містить ген *Sr33*; М – молекулярний маркер (100 bp DNA Ladder); 2, 3, 5, 11, 12 – лінії без гена *Sr33*

**Таблиця 2.** Ознаки продуктивності колосів F<sub>5</sub> пшениці м'якої озимої від схрещування DH31 × Мирхад з геном *Sr33* (R) і без нього (S)

Ознака	R	S	t
Кількість колосків з колоса	17,70 ± 0,22	17,31 ± 0,57	0,64
Кількість зерен з колоса	37,17 ± 0,99	37,11 ± 1,65	0,03
Маса зерна з колоса, г	1,54 ± 0,05	1,59 ± 0,09	-0,42
M1000 зерен, г	40,94 ± 0,52	41,42 ± 0,97	-0,44
Кількість зерен з колоска	2,09 ± 0,05	2,11 ± 0,06	-0,22
Маса зерна з колоска, г	0,086 ± 0,002	0,088 ± 0,003	-0,39

Порівняння середніх значень ознак продуктивності для колосів з родин, що не розщеплюються в  $F_5$  за присутністю маркера (113 колосів з таких родин з *Sr33*) та без нього (45 колосів), не показало істотних відмінностей між двома групами генотипів (табл. 2). Це вказує на те, що присутність інтрогредованого гена *Sr33* не знижує ознаки продуктивності колоса. Таким чином, озимі лінії  $F_5$  з геном *Sr33* від схрещування ДН31 × Мирхад можуть бути використані у подальшій селекційній роботі для створення сортів із конкурентною продуктивністю, високими хлібопекарськими властивостями борошна та стійкістю до стеблової іржі. За умов помірного клімату озима м'яка пшениця займає основні площі. Зокрема в Україні 97,5 % від площ під пшеницею зайняті саме озимою пшеницею, її частка у виробництві зерна пшениці також становить 97,5 % ([https://ukrstat.gov.ua/druk/publicat/kat\\_u/2021/zb/05/zb\\_rosl\\_2020.pdf](https://ukrstat.gov.ua/druk/publicat/kat_u/2021/zb/05/zb_rosl_2020.pdf)). Тому створення саме матеріалу озимої пшениці для ефективного впровадження гена *Sr33* в селекційний процес є вкрай важливим для зменшення загрози виникнення епіфітотії стеблової іржі, небезпека якої зростає в Європі в останнє десятиріччя (Oliveira et al, 2017, 2019, Patroux et al, 2022).

Таким чином, результатом проведеного дослідження стало отримання озимих ліній пшениці покоління  $F_5$ , відібраних за допомогою молекулярного маркера *Sr33A*. Kerber and Dyck (1979), які перенесли ген *Sr33* від *Ae. tauschii* в гексаплоїдну пшеницю, початково використали морфологічний маркер – темний колір колоскової луски, проте прояв цього маркера може бути прихованим (слабо вираженим) за певних умов довкілля; крім цього дослідники обмежені вибором батьківських форм, у яких подібна ознака повинна бути відсутньою. Пізніше було показано, що гліадиновий локус *Gli-D1* зчеплений із геном *Sr33* (5,6–7,6 % рекомбінації), а ген *Sr33* прокартовано проксимально від нього (Jones et al, 1991).

Лінія ДН31, використана нами як джерело гена *Sr33*, також має темний колір колоскових лусок (контролюється локусом *Rg-D1* (*Rg-2*)) та зчеплений з ним специфічний алель локусу *Gli-D1* від *Ae. tauschii*, частота рекомбінації між

якими складає 1,4 % (Jones et al, 1990). Однак, саме ген-специфічний домінантний ДНК маркер *Sr33A*, використаний у цьому дослідженні, є максимально зручним і точним. Поєднання добору за цим маркером з добором за маркерами високої хлібопекарної якості – *Glu-B1a1* та *Glu-D1d*, носієм яких є лінія ДН31, дозволить виділити перспективні лінії зі стійкістю до стеблової іржі та високою хлібопекарською якістю. Відомо, що присутність певних генів стійкості може бути пов'язана зі зниженням урожайності (Brown, 2002). Результати наших досліджень ознак продуктивності колоса дозволяють припустити, що присутність гена *Sr33*, не справляє негативний вплив на урожайність отриманих селекційних ліній озимої пшениці.

**Дотримання етичних стандартів.** Ця стаття не містить будь-яких досліджень за участю людей або тварин в якості об'єктів дослідження.

**Конфлікт інтересів.** Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

**Фінансування.** Робота була виконана за фінансової підтримки Козуб Н.О., Пірко Я.В., Созінов І.О., Карелов А.В., Созінова О.І., Ємець А.І. в рамках проекту НФДУ 2021.01/0313 «Створення генотипів пшениці м'якої з генами стійкості проти високопатогенних рас стеблової іржі з використанням молекулярних маркерів як запорука харчової безпеки України».

#### DEVELOPMENT OF WINTER COMMON WHEAT LINES WITH THE STEM RUST RESISTANCE GENE *Sr33*

N.O. Kozub, Ya.V. Pirko, I.O. Sozinov,  
A.V. Karelov, O.I. Sozinova, B.V. Ivashchuk,  
G. Fedak, A.I. Yemets, Ya.B. Blume

Institute of Food Biotechnology and Genomics,  
Natl. Acad. Sci. of Ukraine,  
2a Baidy-Vyshnevetskoho str., Kyiv, 04123, Ukraine  
Institute of Plant Protection, Natl. Acad. Agrarian  
Sci., 33 Vasylkivska str., Kyiv, 03022, Ukraine  
Eastern Cereal and Oilseed Research Centre, Agriculture and  
Agrifood Canada, Ottawa, Ontario, K1A 0C6, Canada,  
george.fedak@AGR.GC.CA

E-mail: natalkozub@gmail.com; yarvp1@gmail.com;  
george.fedak@AGR.GC.CA; yemets.ala@gmail.com;  
cellbio@cellbio.freenet.viaduk.net

Stem rust caused by the fungus *Puccinia graminis* Pers. is a dangerous disease of wheat which occurs in all regions

of its cultivation. New highly virulent races causing severe yield losses have appeared in recent decades. *Sr33* introgressed from *Aegilops tauschii* is one of the genes conferring resistance against most races of stem rust including Ug99. To develop winter common wheat lines with the gene *Sr33* and evaluate a possible effect of the gene on yield traits, we made a cross between the spring line DH31 carrying the *Sr33* gene and the winter cultivar Myrkhad followed by marker-assisted selection of winter genotypes with *Sr33* beginning from F<sub>3</sub>. To identify the *Sr33* gene, we used PCR with the gene-specific marker *Sr33A*. Alleles at the storage protein loci of the parental forms were identified using acid polyacrylamide gel electrophoresis and SDS-electrophoresis, as well as the molecular marker MAR for *Glu-B1a1*. As a result of marker-assisted selection, winter F<sub>5</sub> lines with the *Sr33* gene were developed from the cross DH31 × Myrkhad. The yield traits of F<sub>5</sub> spikes of families derived from single F<sub>3</sub> spikes with and without *Sr33* were analyzed considering that the line DH31 has a specific allele at *Gli-D1* from *Ae. tauschii*, dark glumes, and high molecular weight glutenin subunit alleles associated with high dough strength, in particular *Glu-B1a1*. Comparison of means of yield traits of spikes from families with *Sr33* and without it did not reveal significant differences between these two groups. Thus, winter F<sub>5</sub> lines with the *Sr33* gene from the cross DH31 × Myrkhad may be used in the breeding practice to develop cultivars with high bread-making qualities of flour and stem rust resistance.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Aktar-Uz-Zaman M, Tuhina-Khatun M, Musa Hanafi et al (2017) Genetic analysis of rust resistance genes in global wheat cultivars: An overview. *Biotechnol Biotechnol Equip* 31:431–445
- Ayliffe M, Periyannan SK, Feechan A et al (2013) A simple method for comparing fungal biomass in infected plant tissues. *Mol Plant Microbe Interact* 26(6):658–667. <https://doi.org/10.1094/MPMI-12-12-0291-R>
- Brown JK (2002) Yield penalties of disease resistance in crops. *Curr Opin Plant Biol* 5(4): 339–344. [https://doi.org/10.1016/s1369-5266\(02\)00270-4](https://doi.org/10.1016/s1369-5266(02)00270-4)
- Butow BJ, Gale KR, Ikea J et al (2004) Dissemination of the highly expressed Bx7 glutenin subunit (*Glu-B1a1* allele) in wheat as revealed by novel PCR markers and RP-HPLC. *Theor Appl Genet* 109(7):1525–1535. <https://doi.org/10.1007/s00122-004-1776-8>
- Casey LW, Lavrencic P, Bentham AR et al (2016) The CC domain structure from the wheat stem rust resistance protein *Sr33* challenges paradigms for dimerization in plant NLR proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 113(45):12856–12861
- Cesaris S, Moorea J, Chen C et al (2016) Cytosolic activation of cell death and stem rust resistance by cereal MLA-family CC–NLR proteins. *Proc. Natl Acad Sci USA* 113(36):10204–10209. <https://doi.org/10.1073/pnas.1605483113>
- Ivashchuk BV, Pirko YaV, Spivak SI et al (2018). Analysis of Ukrainian and foreign wheat samples for the presence of stem rust resistance genes using molecular markers. *Fakty eksperimental'noi evolucii organizmiv* 22:132–137. <https://doi.org/10.7124/FEEO.v22.937> (in Ukrainian)
- Jin Y, Singh RP, Ward RW et al (2007) 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*. 91:1096–1099. <https://doi.org/10.1094/PDIS-91-9-1096>
- Jones SS, Dvorak J, Knott DR, Qualset CQ (1991) Use of double-ditelosomic and normal chromosome 1D recombinant substitution lines to map *Sr33* on chromosome arm 1DS in wheat. *Genome*. 34:505–508. <https://doi.org/10.1139/g91-077>
- Jones SS, Dvorak J, Qualset CO (1990) Linkage relations of *Gli-D1*, *Rg2*, and *Lr21* on the short arm of chromosome 1D in wheat. *Genome* 33:937–940. <https://doi.org/10.1139/g90-140>
- Karelov A, Kozub N, Sozinova O et al (2022) Wheat genes associated with different types of resistance against stem rust (*Puccinia graminis* Pers.). *Pathogens* 11(10):1157. <https://doi.org/10.3390/pathogens11101157>
- Kerber ER, Dyck PL (1979) Resistance to stem rust and leaf rust of wheat in *Aegilops squarrosa* and transfer of a gene for stem rust resistance to hexaploid wheat. *Proc. 5th Int Wheat Genet. Symp*: 358–364.
- Kozub NA, Sozinov, IA, Sobko TA et al (2009) Variation at storage protein loci in winter common wheat cultivars of the Central Forest-Steppe of Ukraine. *Cytol Genetics* 43(1):55–62. <https://doi.org/10.3103/S0095452709010101>
- Laemmli, U.K. (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227(5259):680–685.
- Leonard KJ, Szabo LJ (2005) Pathogen profile: Stem rust of small grains and grasses caused by *Puccinia graminis*. *Mol Plant Pathol* 6(2):99–111. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2005.00273.x>
- Loughman R, Jayasena KW (2005) Yield loss and fungicide control of stem rust of wheat. *Austral J Agricult Res* 56:91–96. <https://doi.org/10.1071/AR04126>
- McDonald BA, Linde C (2002) Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Ann Rev Phytopathol* 40:349–379. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.40.120501.101443>
- McIntosh RA, Wellings CR, Park RF (1995) *Wheat Rusts: An Atlas of Resistance Genes*. Canberra, Australia: CSIRO. 205 p
- Metakovsky E, Melnik V, Rodriguez-Quijano M et al (2018) A catalog of gliadin alleles: Polymorphism of

- 20th-century common wheat germplasm. *Crop J* 6(6):628–641. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2018.02.003>
- Nazari K, Al-Maarouf E, Kurtulus E et al. (2021) First report of Ug99 race TTKTT of wheat stem rust (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) in Iraq. *Plant Dis* 105: 2719. doi: 10.1094/PDIS-02-21-0404-PDN.
- Olivera P, Newcomb M, Szabo LJ et al (2015) Phenotypic and genotypic characterization of race TKTTF of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* that caused a wheat stem rust epidemic in Southern Ethiopia in 2013-14. *Phytopathology* 105(7):917–928. <https://doi.org/10.1094/PHTO-11-14-0302-FI>
- Olivera PD, Sikharulidze Z, Dumbadze R et al (2019) Presence of a sexual population of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* in Georgia provides a hotspot for genotypic and phenotypic diversity. *Phytopathology* 109(12): 2152–2160. <https://doi.org/10.1094/PHTO-06-19-0186-R>
- Olivera PD, Szabo L, Kokhmetova A et al (2022a) *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* population causing recent wheat stem rust epidemics in Kazakhstan is highly diverse and includes novel virulences. *Phytopathology*. 112(11):2403–2415. <https://doi.org/10.1094/phyto-08-21-0320-r>
- Olivera PD, Villegas D, Cantero-Martínez C et al (2022b) A unique race of the wheat stem rust pathogen with virulence on *Sr31* identified in Spain and reaction of wheat and durum cultivars to this race. *Plant Pathol* 71:873–889. <https://doi.org/10.1111/ppa.13530>
- Olivera Firpo PD, Newcomb M, Flath K et al (2017) Characterization of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* isolates derived from an unusual wheat stem rust outbreak in Germany in 2013. *Plant Pathol* 66:1258–1266. <https://doi.org/10.1111/ppa.12674>
- Olson EL, Brown-Guedira G, Marshall D et al (2010) Development of wheat lines having a small introgressed segment carrying stem rust resistance gene *Sr22*. *Crop Sci* 50:1823–1830. <https://doi.org/10.2135/cropsci2009.11.0652>
- Patpour M, Hovmøller SM, Justesen AF (2016) Emergence of virulence to *SrTmp* in the Ug99 race group of wheat stem rust, *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*, in Africa. *Plant Dis* 100(2):522–552. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-15-0668-PDN>
- Patpour M, Hovmøller MS, Rodriguez-Algaba J et al (2022) Wheat stem rust back in Europe: Diversity, prevalence and impact on host resistance. *Front Plant Sci* 13:882440. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.882440>
- Payne PI, Lawrence G (1983) Catalogue of alleles for the complex gene loci, *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1* which code for high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat. *Cereal Res Commun* 11:29–34.
- Periyannan S, Moore J, Ayliffe M et al (2013) The gene *Sr33*, an ortholog of barley *Mla* genes, encodes resistance to wheat stem rust race Ug99. *Science* 341:786–788. <https://doi.org/10.1126/science.1239028>
- Pretorius ZA, Singh RP, Wagoire WW et al (2000) Detection of virulence to wheat stem rust resistance gene *Sr31* in *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* in Uganda. *Plant Disease* 84(2):203. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.2.203B>
- Sambasivam PK, Bansal UK, Hayden M et al (2008) Identification of markers linked with stem rust resistance genes *Sr33* and *Sr45*. 11th Int Wheat Genetics Symposium 2008 Proceedings
- Singh RP, Hodson DP, Huerta-Espino J et al (2011) The emergence of Ug99 races of the stem rust fungus is a threat to world wheat production. *Ann Rev Phytopathol* 49:465–481. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-072910-095423>
- Stokstad E (2007) Deadly wheat fungus threatens world's breadbaskets. *Science* 315:1786–1787. <https://doi.org/10.1126/science.315.5820.1786>
- The TT, Latter BDH, McIntosh RA et al (1988) Grain yields of near isogenic lines with added genes for stem rust resistance. In Proceedings of the Seventh Int Wheat Genetics Symposium (Cambridge, UK, 13–19 July 1988) Miller, T.E., Koebner, R.M.D., Eds.; Institute of Plant Sciences: Cambridge, UK, 901–909 p
- Wrigley CW, Asenstorfer R, Batey IL et al (2009) The biochemical and molecular basis of wheat quality. In: Carver, B. F. (Ed.), *Wheat: Science and Trade*, Oxford, UK: Wiley-Blackwell: 495–520
- Wu XX, Lin QJ, Ni XY et al (2020) Characterization of wheat monogenic lines with known *Sr* genes and wheat lines with resistance to the Ug99 race group for resistance to prevalent races of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* in China. *Plant Dis* 104(7):1939–1943. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-19-2736-RE>
- Wu X-X, Zang C-Q, Zhang Y-Z et al (2023) Characterization of wheat monogenic lines with known *Sr* genes and wheat cultivars for resistance to three new races of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* in China. *J Integrat Agric* 22(6):1740–1749. <https://doi.org/10.1016/j.jia.2022.08.125>
- Zhang B, Chi D, Hiebert C et al (2019) Pyramiding stem rust resistance genes to race TTKSK (Ug99) in wheat, *Can J Plant Pathol* 41(3):443–449. <https://doi.org/10.1080/07060661.2019.1596983>
- Zhang W, Lukaszewski AJ, Kolmer J et al (2005) Molecular characterization of durum and common wheat recombinant lines carrying leaf rust resistance (*Lr19*) and yellow pigment (Y) genes from *Lophopyrum ponticum*. *Theor Appl Genet* 111:573–582. <https://doi.org/10.1007/s00122-005-2048-y>

Надійшла в редакцію 02.08.23  
Після доопрацювання 17.08.23  
Прийнята до друку 18.11.23