

Туруспеков Е.К., Рсалиев Ш.С.,
Рсалиев А.С., Ермекбаев К.А.,
Абугалиева С.И.

**Поиск ДНК-маркеров
устойчивости ячменя
к стеблевой ржавчине**

Коллекция из 96 сортов и линий ярового ячменя из Казахстана изучена на устойчивость к стеблевой ржавчине на инфекционном фоне в полевых условиях Института проблем биологической безопасности (Жамбылская область). Полученные данные по устойчивости ячменя на инфекционном фоне проанализированы в связи с оценкой урожайности изученной коллекции в естественных условиях семи различных регионов Казахстана (2009-2014 гг.). В результате микросателлитного анализа коллекции с использованием 81 ДНК-маркера, идентифицировано 9 SSR-маркеров, статистически достоверно связанных с устойчивостью к стеблевой ржавчине. Отобраны устойчивые линии ячменя с целью использования в различных региональных проектах по селекции ячменя. Полученные данные могут быть использованы для повышения эффективности селекционных исследований по созданию устойчивых и продуктивных сортов ячменя.

Ключевые слова: ячмень, стеблевая ржавчина, ДНК-маркеры, устойчивость, урожайность.

Tusupbekov Y.K., Rsaliev Sh.S.,
Rsaliev A.C., Ermekbaev K.A.,
Abugaliyeva S.I.

**The search of DNA markers
associated with barley resistance
to stem rust**

The collection of 96 cultivars and promising lines of spring barley from Kazakhstan was studied for resistance to stem rust by using artificially infected field conditions of the Research Institute of problems for Biological Safety (Zhambul region). Obtained results of barley resistance at infected conditions were studied in relationship to grain yield recorded at 7 different locations of Kazakhstan during the period from 2009 to 2014. In addition, the results of 81 microsatellite markers screened for all 96 barley accessions were allowed to identify 9 DNA markers that statistically wise reliably associated with resistance to stem rust. A number of stem rust resistant lines for stem rust were identified for different regional barley breeding programs. The results of this work can be successfully used in studies associated with improved and efficient breeding for disease resistance and higher grain yield of barley in Kazakhstan.

Key words: barley, stem rust, DNA markers, resistance, yield.

Туруспеков Е.К., Рсалиев Ш.С.,
Рсалиев А.С., Ермекбаев К.А.,
Абугалиева С.И.

**Арпаның сабақтың татына
төзімділігінің
ДНК-маркерлерін іздеу**

Қазақстанның жаздық арпасының 96 сорттары мен линияларынан құралған коллекцияның сабақтың татына төзімділігі Биологиялық қауіпсіздік проблемалары институтында (Жамбыл ауданы) далалық инфекциялық фонда текерілді. Арпа үлгілерінің төзімділігі бойынша инфекциялық фонда алынған нәтижелер Қазақстанның жеті әртүрлі аумақтарында (2009-2014) зерттелген коллекцияның өнімділігін бағалау арқылы талданды. Жалпы саны 81 ДНК-маркерлері қолданылған микросателлитті талдау негізінде сабақтың татына төзімділікпен статистикалық тығыз байланысқан 9 маркер анықталды. Жаздық арпаның сабақтың татына төзімді линиялары жекелеген аймақтардағы арпа селекциясы бойынша жобалар үшін таңдалып алынды. Алынған нәтижелер Қазақстандағы арпаның төзімді және өнімді сорттарын шығаруға бағытталған селекциялық зерттеулердің тиімділігін арттыру үшін қолданылуы мүмкін.

Түйін сөздер: арпа, сабақтың таты, ДНК-маркерлер, төзімділік, өнімділік.

ПОИСК ДНК-МАРКЕРОВ УСТОЙЧИВОСТИ ЯЧМЕНЯ К СТЕБЛЕВОЙ РЖАВЧИНЕ

Введение

Ячмень является второй по важности зерновой культурой Казахстана после пшеницы и ежегодно выращивается на площади более 1,5 миллиона гектаров (Комитет по статистике Министерства Национальной экономики РК). Вместе с этим, в связи с рядом стрессовых факторов, включая ржавчинные болезни, урожайность ячменя в среднем не превышает 2 тонн на гектар [1, 2].

Эффективность растениеводства во многом зависит от фитосанитарного состояния агро- и фитоценозов [3]. Стеблевая ржавчина, возбудителем которой является базидиальный гриб *Rustia graminis*, является наиболее опасной болезнью ячменя в Казахстане, и в отдельные годы приводит к снижению урожайности до 50-60% [4]. Учитывая опасность стеблевой ржавчины для посевов ячменя во многих регионах мира, проводятся интенсивные исследования в области генетики и селекции на устойчивость к данной болезни [5-10]. Так, в 2002 году был идентифицирован ген *rpg1* [11], расположенный в коротком плече хромосомы 7Н, который обуславливал устойчивость американских сортов ячменя к стеблевой ржавчине в течение последних 65 лет, в 2000 году был впервые физически картирован ген ячменя *rpg4* на длинном плече хромосомы 5Н [12]. В 2011 году, в рамках кооперативного проекта по изучению генетики и селекции ячменя в США, были опубликованы результаты комплексных исследований по картированию генов устойчивости к стеблевой ржавчине, включая устойчивость к новой наиболее опасной быстро распространяющейся расе Ug99, с использованием новых геномных технологий [5]. Так, на хромосомах 2Н и 5Н авторами были идентифицированы новые гены, обуславливающие устойчивость к Ug99. При этом было установлено, что локус, обнаруженный на хромосоме 2Н, играл ключевую роль в резистентности растений путем транскрипционной супрессии сотни других генов, расположенных в различных регионах генома ячменя [5].

Вместе с этим, аналогичные работы, несмотря на высокую актуальность, не проводились в Казахстане. Следовательно, поиск устойчивых форм к данной и другим болезням, иден-

тификация генов и надежных ДНК-маркеров, определяющих устойчивость растений к патогенам, являются принципиально важными задачами для современной селекции ячменя. В связи с этим, целью данной работы была идентификация устойчивых форм в отечественной коллекции ячменя и эффективных ДНК-маркеров, ассоциированных с устойчивостью к стеблевой ржавчине в условиях Казахстана.

Материалы и методы

В работе использовалась коллекция двурядного ярового ячменя, состоящая из 96 сортов и линий Казахстана (таблица 1), изученная нами в полевых условиях 2009-2011 годов в 7 регионах Казахстана [2, 13-15]. Коллекция выращивалась в полевых условиях Института проблем биологической безопасности (ИПББ) в Жамбылской области [15]. На поливном участке в фазе кущения растений был создан искусственный инфекционный фон с использованием возбудителя стеблевой ржавчины (*Puccinia graminis f.sp. tritici*). Для заражения использовали только местную популяцию гриба. Используемый для заражения инокулюм активировали при температуре 37-40°C в течение 30 минут с последующим обводнением во влажной камере при температуре 18-22°C в течение 2-4 часов.

Инфекционный материал наносили на растения методом опрыскивания водной суспензией спор с 0,001% Твин-80 по Э.Э. Гешеле [16]. Заражение растений проводили вечером в безветренную погоду после предварительного полива и увлажнения листьев растений опытных посевов. Инфекционная нагрузка спор составила 20 мг/м². После заражения деланки накрывали полиэтиленовой пленкой на 16-18 часов для создания высокой влажности. Для накопления инфекции и перезаражения растений через каждые пять опытных деланок были посеяны универсально восприимчивые сорта (спредеры). После проявления болезни на восприимчивых контрольных сортах дважды проводили оценку устойчивости растений к стеблевой ржавчине, отмечая тип поражения (в баллах) по шкале Е.С. Stakman и М.Н. Levine [17], степень поражения болезнями (в%) – R.F. Peterson и др. (модифицированная шкала Кобба) [18]. При этом балл «0» относится к иммунному типу, 1-2 балла – устойчивому, а 3-4 балла – восприимчивому типу [18]. Оценка устойчивости проводилась на двух фазах развития растений – колошение (учет 1) и созревания зерна (учет 2, две недели после колошения). В условиях Карабалыкской СХОС коллекция ячменя была изучена на поражаемость к стеблевой ржавчине на естественном фоне [13, 14].

Таблица 1 – Сорта и линии ярового ячменя *Hordeum vulgare* L., созданные в 6 селекционных учреждениях Казахстана, использованные в анализе

Учреждение-оригинатор (МСХ РК)	Сорта и линии ярового ячменя
Карабалыкская СХОС	Сорта – Убаган, Гранал, Карабалыкский 110, Дружный, Медикум 85, Жаик-2, Тулпар, Нутанс 39, Ранний, Пастбишный, Гранал 447; линии – 19-89-01, 27-121-01, 33-144-01
Карагандинский НИИ растениеводства и селекции	Сорта – Нуринский 1, Карагандинский 5, Медикум 11, Карагандинский 2, Медикум 142, Карагандинский 7, Медикум 104, Медикум 176, Медикум 127, Медикум 156, Медикум 163, Медикум 101, Медикум 373, Медикум 376, Медикум 349, Медикум 365, Медикум 318
Актюбинская СХОС	Сорта – Илек-9, Яссы; образцы – ASHOS-163, ASHOS-164, ASHOS-167, ASHOS-168, ASHOS-169, ASHOS-175, ASHOS-181, ASHOS-182, ASHOS-183, ASHOS-184, ASHOS-185, ASHOS-187, ASHOS-194
КазНИИЗиР	Сорта – Асем, Сауле, Сыр Аруы, Сусын, Кымбат, Жан, Инкар, Елік; линии – 2/84-6, 3/24-01, 6/98-20, 26/98-8, 49/86-1, 74/87-11, 75/80-46с, 76/86-241с, 99/99-7
Красноводопадская СХОС	Сорта – Атамекен, Байшешек, Богара, Бірлік, Красноводопад-100; линии – L-5/T-26, L-9/T-26, Л-11/T-26, Л-14/T-26, Л-217/T-26, Л-24/T-26, Л-28АГ, Л-38/T-26, Л-46/T-26
Кызылординский НИИ рисоводства	Сорт – Улар; линии – 12/00-7, 103/99-11, 83/80-2, 41/99-7, 25/00-21, 59/87-30, 46/00-14, 74/99-4, 1/99-3, 1/99-1, 53/86-20, 103/99-13, 122/99-6, 104/99-5, 2/99-4, 65/99-14

Выделение тотальной ДНК проводили по DeLaporta, 1983 [19]. Концентрацию тотальной ДНК определяли спектрофотометрически на спектрофотометре BioRad (США). Для изучения 81 микросателлитных (SSR – **simple sequence repeats**) маркеров применяли метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием различных пар SSR-праймеров, с соответствующей оптимизацией условий реакции для конкретных пар праймеров [20]. Реакционная среда для SSR-амплификации включала 0.2 мМ каждого dNTP, 250 мкМ каждого праймера, 0,5-1,5 мМ MgCl₂, 1 ед. *Taq*-полимеразы, 30-50 ng исследуемой ДНК.

ПЦР, включающую предварительную денатурацию тотальной ДНК при 94°C в течение 1 мин., последующие 30-40 циклов (94°C – 1 мин., 50-60°C – 30-60 сек., 72°C – 1 мин.) и элонгацию при 72°C – 7 мин., проводили, используя термоамплификатор Veriti (Applied Biosystems, США). Количество циклов и температура отжига зависели от используемых в анализе пар праймеров. Продукты ПЦР разделяли

электрофоретически в 1,5% агарозном и 6% полиакриламидном гелях в трис-ЭДТА-боратном буфере pH 8,0.

Статистические методы по корреляции и *t*-теста применялись с использованием прикладной программы GraphPad Prism 5. Минорные аллели (с менее чем 10% встречаемости) не использовались в статистическом анализе с применением метода *t*-тест.

Результаты и их обсуждение

Устойчивость отечественной коллекции ярового ячменя с использованием инфекционного фона заражения местного патотипа стеблевой ржавчины

Анализ культивируемых сортов и линий ярового ячменя Казахстана на инфекционном фоне ИПББ позволил ранжировать все 96 образцов по степени их устойчивости к стеблевой ржавчине на взрослой стадии развития растений по 5 бальной системе. Фрагмент результатов анализа представлен в Таблице 2.

Таблица 2 – Фитопатологический анализ коллекции сортов и линий ячменя (взрослая стадия) на устойчивость к стеблевой ржавчине (фрагмент)

Названия сортов	Колошение (учет 1)		2 недели после колошения (учет 2)	
	Тип 1 (балл)	Тип 2 (%)	Тип 1 (балл)	Тип 2 (%)
Нуринский 1	1	1	2	5
Карагандинский 5	0	0	0	0
Медикум 11	2	5	3	10
Карагандинский 2	0	0	3	5
Карагандинский 6	0	0	3	5
Медикум 142	1	5	0	0
Карагандинский 7	0	0	2	20

Все растения были обработаны местным патотипом данной болезни на стадии кущения растений.

В результате проведенного анализа было определено, что по устойчивости к стеблевой ржавчине на стадии колошения 10 образцов оказались умеренно устойчивыми, 3 образца восприимчивыми к данной болезни, остальные 83 образца были абсолютно устойчивыми. На стадии созревания зерна ситуация значительно изменилась. Было выявлено 34 образца ячменя, которые проявили абсолютную устойчивость к данной болезни, 33 образца оказались умеренно устойчивыми

и 29 образцов ячменя восприимчивыми. Корреляция результатов оценки устойчивости между двумя учетами (стадия колошения и 2 недели после колошения) была высоко достоверной ($P < 0,0001$). Выявленные устойчивые образцы могут значительно расширить возможности селекционеров ячменя Казахстана в исследованиях, направленных на повышение устойчивости отечественных сортов к данной болезни.

Кроме того, был осуществлен корреляционный анализ устойчивости к стеблевой ржавчине на инфекционном фоне и урожайностью данной коллекции в семи регионах Казахстана,

изученных в 2009-2011 гг.. Трехлетние эксперименты по изучению урожайности ячменя, выращенного в 7 регионах страны, позволили получить результаты по 20 условиям (результаты в Приаральском центре генетических ресурсов им. Н.И. Вавилова, г. Шалкар, Актюбинская область, были представлены только по двум годам – 2009 и 2010 гг.) [2, 13, 14]. Результаты устойчивости образцов ячменя на стадии колошения (учет 1) статистически достоверно коррелировали ($P < 0.05$) с урожайностью ячменя в Кызылординской области в 2009 г. и Алматинской области в 2011 г. На стадии созревания зерна (учет 2) устойчивость к стеблевой ржавчине образцов ячменя коллекции достоверно коррелировала с урожайностью во всех регионах, за исключением полевых экспериментов в Карагандинском институте селекции и растениеводства (Карагандинская область) и Красновоподской сельскохозяйственной опытной станции (Южно-Казахстанская область). Наиболее высокая корреляция была установлена для урожайности коллекции ячменя в Карабалыкской сельскохозяйственной опытной станции (Костанайская область) в 2009 году ($P < 0.009$). Таким образом, полученные результаты позволяют предположить о высокой значимости устойчивости растений к стеблевой ржавчине для повышения урожайности ярового ячменя практически во всех основных зерносеющих регионах страны.

Генотипирование коллекции культивируемого ячменя Казахстана с использованием микросателлитных SSR-маркеров

Для поиска специфичных ДНК-маркеров устойчивости к стеблевой ржавчине в коллекции

ячменя казахстанской селекции было осуществлено генотипирование 96 отечественных сортов и линий с использованием 81 микросателлитного маркера. Результаты скрининга всех 96 образцов позволили выявить полиморфизм по 75 ДНК-маркерам из всех изученных 81 маркеров, что свидетельствует о высоком уровне гетерогенности отечественной коллекции ярового ячменя. Для 75 идентифицированных полиморфных маркеров были подсчитаны частоты встречаемости всех выявленных аллелей. На основе частот аллелей ДНК-маркеров был определен уровень генетического разнообразия по Ней и полиморфизма по индексу PIC (*polymorphism information index*) для каждого микросателлитного маркера. Ранжирования индекса PIC полиморфных маркеров для изученной коллекции позволили обнаружить, что наименьший уровень зафиксирован для маркера *BCAC0084* (хромосома 4Н), наивысший уровень для маркера *Bmag0316* (хромосома 6Н). Средний уровень индексов Ней и PIC для полиморфных маркеров составил 0,758 и 0,525, соответственно.

Для поиска ДНК-маркеров, статистически достоверно связанных с устойчивостью коллекции ячменя к стеблевой ржавчине был использован метод *t*-тест. Все изученные 96 образцов были разбиты на группы в соответствии с аллельным состоянием по каждому SSR-маркеру. Далее, все группы внутри каждого маркера были протестированы на достоверное статистическое различие с использованием метода *t*-тест. В результате было идентифицировано 9 SSR-маркеров статистически достоверно связанных с устойчивостью к стеблевой ржавчине ячменя (таблица 3).

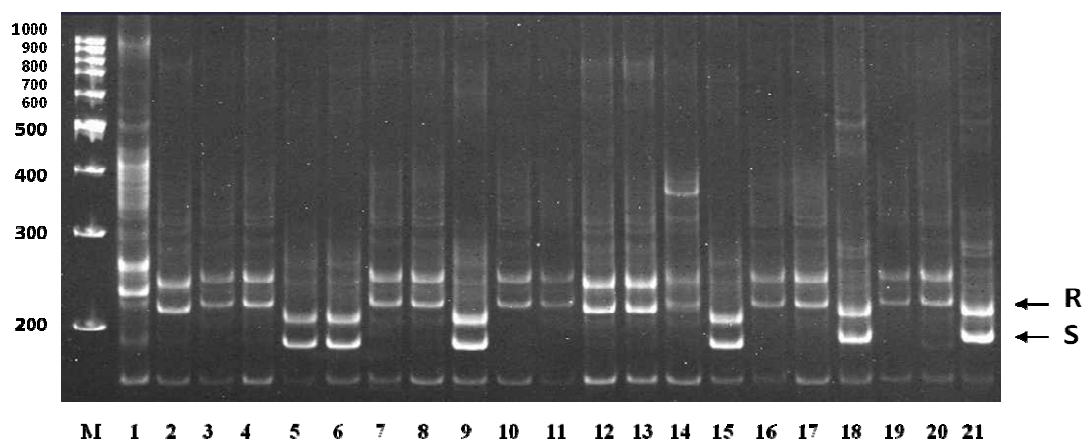
Таблица 3 – Список идентифицированных ДНК-маркеров, статистически достоверно связанных с устойчивостью к стеблевой ржавчине ячменя

SSR-маркер	Хромосома	PIC	Стадия колошения	Стадия созревания зерна
<i>Bmag0211</i>	1Н	0.5527	$P < 0.001$	*
<i>BMS90</i>	1Н	0.7966	$P < 0.05$	$P < 0.05$
<i>HVM36</i>	2Н	0.5290	$P < 0.05$	*
<i>Bmac0067</i>	3Н	0.3984	*	$P < 0.001$
<i>Bmac0131</i>	3Н	0.6855	$P < 0.0001$	$P < 0.05$
<i>EBmac0541</i>	3Н	0.4640	$P < 0.001$	*
<i>HvDHN7</i>	5Н	0.5000	$P < 0.001$	*
<i>HvCABG</i>	7Н	0.5211	$P < 0.05$	*
<i>Bmag0206</i>	7Н	0.7632	*	$P < 0.001$

Примечание – * – статистически не достоверно

Из идентифицированных 9 микросателлитных маркеров 5 маркеров ассоциированы с устойчивостью к стеблевой ржавчине на стадии колошения, 3 маркера – на стадии созревания зерна, и 1 маркер (*Bmac0131*) был значим на обеих стадиях развития растений. Полученные результаты, с одной стороны, предполагают связь идентифицированных SSR-маркеров с хромосомной локализацией генов *Rpg1* (7H) и

Rpg4 (5H), с другой стороны, показывают наличие новых локусов на хромосомах 1H, 2H, и 3H хромосомах, связанных с устойчивостью к стеблевой ржавчине. В качестве примера приведены электрофореграммы образцов коллекции ячменя по SSR-маркеру *BMS90* (Рисунок 1), где представлены различия аллелей данного маркера по количеству повторов мотива (GA)8(AT)9(CA)20.



М – молекулярный маркер (Fermentas, 100 bp), 1-21 образцы ячменя Казахстана.

Аллель S имеет длину 195 пар нуклеотидов (п.н.), аллель R – 221 п.н.

Образцам 5, 6, 9, 15, 18 и 21 соответствует аллель восприимчивости (S) к стеблевой ржавчине

Рисунок 1 – Электрофореграммы образцов ярового ячменя из Казахстана по SSR-маркеру *BMS90* (фрагмент)

Таким образом, в результате выполненной работы идентифицировано 34 устойчивых к стеблевой ржавчине сортов и линий ярового ячменя Казахстана. Также, идентифицировано 9 микросателлитных ДНК-маркеров, статистически достоверно связанных с устойчивостью к стеблевой ржавчине ячменя. Полученные результаты могут быть широко использованы в селекционных программах, направленных на создание устойчивых и продуктивных сортов ячменя.

Работа выполнена в рамках проекта «Генетическое картирование генов и локусов количественных признаков, ассоциированных с устойчивостью к стеблевой ржавчине и темно-бурой пятнистости в коллекциях дикорастущего и культивируемого ячменя» по бюджетной программе МОН РК «Грантовое финансирование научных исследований» на 2013-2015 гг.

Литература

- 1 Комитет по статистике Министерства национальной экономики РК. http://www.kps.kz/astana/company/komitet_po_statistike_ministerstva_natsionalnoy_ekonomiki_rk
- 2 Turuspekov Y., Sariev B., Chudinov V., Sereda G., Tokhetova L., Ortaev A., Tsygankov V., Doszhanov M., Volis S., Abugalieva S. Genotype x environment interaction patterns for grain yield of spring barley in different regions of Kazakhstan // Генетика. – 2013, том 49, № 2. – С.196-205.
- 3 Койшибаев М. Болезни зерновых культур. – Алматы: «Бастау», 2002. – 367 с.
- 4 Рсалиев Ш.С. Устойчивость пшеницы и ячменя к ржавчинным болезням в Казахстане // «Современное состояние и перспективы развития генетики и селекции зерновых культур в Казахстане». – Алматы, 2012. – С. 96-100.

- 5 Moscou M.J., Lauter N., Steffenson B., Wise R.P. Quantitative and qualitative stem rust resistance factors in barley are associated with transcriptional suppression of defense regulons // *PLoS Genet.* – 2011. – Vol. 7. – N7. – P. e1002208.
- 6 Steffenson B.J., Jin Y. Resistance to race tks of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* in barley // *Phytopathology.* – 2006. – Vol. 96. – P. 5110.
- 7 Ballini E., Lauter N., Wise R. Prospects for advancing defense to cereal rusts through genetical genomics // *Front Plant Sci.* – 2013. – Vol. 1. – №4. – P.117.
- 8 Zhou H., Steffenson B.J., Muehlbauer G., Wanyera R., Njau P., Ndeda S. Association mapping of stem rust race TTKSK resistance in US barley breeding germplasm // *Theoretical and Applied Genetics.* –2014. –Vol.127. –N.6. –P.1293-304.
- 9 Dracatos P., Singh D., Fetch T. Jr, Park R. Resistance to *Puccinia graminis* f. sp. *avenae* in Barley Is Associated with the *Rpg5* Locus // *Phytopathology.* – 2015. – Vol.105. –N.4. –P.490-494.
- 10 Brueggeman R., Rostoks N., Kudrna D., Kilian A., Han F., Chen J., Druka A., Steffenson B., Kleinhofs A. The barley stem rustresistance gene *Rpg1* is a novel disease-resistance gene with homology to receptor kinases // *PNAS.* –2002. –Vol.99. –P.9328-9333.
- 11 Druka A., KudrnaD., Han F., KilianA., Steffenson A., Frisch D., Tomkins J., Wing R., Kleinhofs A. Physical mapping of the barley stem rust resistance gene *rpg4* // *Molecular and General Genetics.* – 2000. – Vol.264. – P. 283-290.
- 12 Turuspekov Y., Sariiev B., Abugalieva A., Chudinov V., Sereda G., Tokhetova L., Ortaev A., Tsygankov V., Yespanov A., Blake T., Sato K., Abugalieva S. Comparative genetic and phenotypic variation of USA and Kazakhstan barley accessions // *Book of Abstracts of EUCARPIA Cereals Section – ITMI Joint Conference.* U.Lohwasser & A.Börner (eds.), Wernigerode 2014a, P.188.
- 13 Turuspekov Ye., Rsaliev S., Rsaliev A., Tokhetova L., Chudinov V., Sereda G., Ortaev A., Sariiev B., Abugalieva S. Resistance to stem rust in spring barley from Kazakhstan // *1st International Workshop on Barley Leaf Diseases, Salsomaggiore Terme, 03-06 June 2014b.* P.75.
- 14 Туруспеков Е.К. Состояние и перспективы развития молекулярной генетики ячменя в Казахстане // *Вестник КазНУ. Серия биологическая.* – 2010. – №3(45). – С. 90-96.
- 15 Методы заражения растений и учета результатов в селекции // Гешеле Э.Э. Основы фитопатологической оценки в селекции растений. – Москва: Колос, 1978. – С.129-159.
- 16 Stakman E.C., Levine M.N. The determination of biologic forms of *Puccinia graminis* on *Triticum* spp. // *Minn. Agr. Exp. St. Technol. Bull.* – 1922. – N.8 – P.38-41.
- 17 Peterson R.F., Campbell A.B., Hannah A.E. A diagrammatic scale for estimating rust intensity on leaves and stems of cereals // *Canadian Journal of Research.* – 1948. – Vol.26. – P.496-500.
- 18 Delaporta S.L., Wood J., Hicks J.B. A plant DNA minipreparation. Version II // *Plant Mol. Biol. Rep.* – 1983. – V.4. – P. 19-21.
- 19 Аbugалиева С.И., Туруспеков Е.К. ДНК-маркеры в генетике и селекции зерновых культур: научно-методические рекомендации. – Алматы: «I see real», ISBN 9965-9272-4-3. 2009. – 84 с.

References

- 1 Committee on statistics of the Ministry of National economics of Republic of Kazakhstan. http://www.kps.kz/astana/company/komitet_po_statistike_ministerstva_natsionalnoy_ekonomiki_rk
- 2 Turuspekov Y., Sariiev B., Chudinov V., Sereda G., Tokhetova L., Ortaev A., Tsygankov V., Doszhanov M., Volis S., Abugalieva S. Genotype x environment interaction patterns for grain yield of spring barley in different regions of Kazakhstan. *Genetika*, 2013, vol. 49, no.2. pp. 196-205.
- 3 Koyshibaev M. Diseases of cereal crops, Almaty, Bastau, 2002. 367 p.
- 4 Rsaliev Sh.S. Resistance of wheat and barley to rust diseases in Kazakhstan. Proc. of the republican seminar «Current state and prospects of development of genetics and selection of grain crops in Kazakhstan. Almaty, 2012, pp. 96-100.
- 5 Steffenson B. J., Jin Y., Rossnagel B. G., Rasmussen J. B., Kao K. Genetics of multiple disease resistance in a doubled-haploid population of barley. *Plant Breeding*, 1995, vol.114, pp. 50-54.
- 6 Moscou M.J., Lauter N., Steffenson B., Wise R.P. Quantitative and qualitative stem rust resistance factors in barley are associated with transcriptional suppression of defense regulons. *PLoS Genet*, 2011, vol. 7, no.7, pp. e1002208.
- 7 Steffenson B.J., Jin Y. Resistance to race tks of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* in barley. *Phytopathology*, 2006, vol. 96, pp. 5110.
- 8 Ballini E., Lauter N., Wise R. Prospects for advancing defense to cereal rusts through genetical genomics. *Frontiers in Plant Science*, 2013, vol. 1, no.4, pp. 117.
- 9 Zhou H., Steffenson B.J., Muehlbauer G., Wanyera R., Njau P., Ndeda S. Association mapping of stem rust race TTKSK resistance in US barley breeding germplasm. *Theoretical and Applied Genetics*, 2014, vol.127, no.6, pp. 1293-1304.
- 10 Dracatos P., Singh D., Fetch T. Jr, Park R. Resistance to *Puccinia graminis* f. sp. *avenae* in Barley Is Associated with the *Rpg5* Locus. *Phytopathology*, 2015, vol. 105, no.4, pp.490-494.
- 11 Brueggeman R., Rostoks N., Kudrna D., Kilian A., Han F., Chen J., Druka A., Steffenson B., Kleinhofs A. The barley stem rustresistance gene *Rpg1* is a novel disease-resistance gene with homology to receptor kinases. *PNAS*, 2002, vol. 99, pp. 9328-9333.
- 12 Druka A., Kudrna D., Han F., KilianA., Steffenson A., Frisch D., Tomkins J., Wing R., Kleinhofs A. Physical mapping of the barley stem rust resistance gene *rpg4*. *Molecular and General Genetics*, 2000, vol.264, pp. 283-290.
- 13 Turuspekov Y., Sariiev B., Abugalieva A., Chudinov V., Sereda G., Tokhetova L., Ortaev A., Tsygankov V., Yespanov A., Blake T., Sato K., Abugalieva S. Comparative genetic and phenotypic variation of USA and Kazakhstan barley accessions // *Book*

of Abstracts of EUCARPIA Cereals Section – ITMI Joint Conference. U.Lohwasser & A.Börner (eds.), Wernigerode 2014a, P.188.

14 Turuspekov Ye., Rsaliev S., Rsaliev A., Tokhetova L., Chudinov V., Sereda G., Ortaev A., Sariev B., Abugalieva S. Resistance to stem rust in spring barley from Kazakhstan. 1st International Workshop on Barley Leaf Diseases, Salsomaggiore Terme, 03-06 June 2014b. P.75.

15 Turuspekov Y.K. State and prospects of development of molecular genetics of barley in Kazakhstan. Bulletin of KazNU. Biology. – 2010. – №3(45). – С. 90-96.

16 Plant infection methods and value of its results in plant breeding. Geshele E.E. Bases of a phytopathologic assessment in plant breeding. Moscow, Kolos, 1978, pp. 129-159.

17 Stakman E.C., Levine M.N. The determination of biologic forms of Puccinia graminis on Triticum spp. Minnesota agricultural experiment station bulletin, 1922, vol.8, pp. 38-41.

18 Peterson R.F., Campbell A.B., Hannah A.E. A diagrammatic scale for estimating rust intensity on leaves and stems of cereals. Canadian Journal of Research, 1948, vol.26, pp. 496-500.

19 Delaporta S.L., Wood J., Hicks J.B. A plant DNA miniprep. Version II. Plant Molecular Biology Reporter, 1983, vol.4, pp. 19-21.

20 Abugalieva S.I., Turuspekov Ye.K. DNA markers in genetics and breeding of cereal crops: methodical recommendations. Almaty, I see real, 2009, 84 p.