

LPS serological properties of *S. typhimurium* and *S. enteritidis* were studied by indirect ELISA. LPS antigens were immobilized at various concentrations from 2 mg/ml to 10 mg/ml on the surface of the polystyrene plates wells for optimal LPS antigen concentrations determination. As optimum we identified conditions, under which absorbance values of the highest dilution of immunized mice serum had exceeded the absorbance of negative serum two or more times (figure 2).

Optimal antigen concentrations for sensibilization of solid phase are 5 µg/ml and 10 µg/ml, the antibody titer reached 1:6400. When antigen concentration was 2 µg/ml, the antibodies titer decreased to 1:800. Increase of antigen concentration to 20 µg/ml led to intense background image.

LPS antigens of *S. typhimurium* and *S. enteritidis* were used to mice immunization for detection of LPS antigenic properties. Serum of immunized mice were tested on the content of specific antibodies against LPS antigens by the indirect ELISA.

The optimal combination of five injections facilitated the emergence of sufficient serum antibodies with high affinity to used antigens. Specific serum antibodies titers of immunized mice against LPS ranged from 1:6400 to 1:25600. This indicated an active induction of B-lymphocytes clones, which produced antibodies with a predetermined specificity.

References

- 1 Kumar S., Balakrishna K., Batra H.V. Enrichment-ELISA for detection of *Salmonella typhi* from food and Water Samples // Biomedical and environmental sciences. – 2008. – № 21. – P. 137-143.
- 2 Slauch J.M., Mahan M.J., Michetti P. Acetylation (O-factor 5) affects the structural and immunological properties of *Salmonella typhimurium* lipopolysaccharide O-antigen // Infection and Immunity. – 1995. - № 2. - P. 437-441.
- 3 Westphal O., Jann K. Methods of carbohydrate chemistry. – Moscow: Mir, 1967. – P. 325-332.
- 4 Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein – Dye Binding // Analytical biochemistry. -1976. - № 72. – P. 248-254.
- 5 Fridlyanskaya I.I. Production of polyclonal antibodies // Methods of cell cultivation. – Leningrad, 1988. – P. 194-205.
- 6 Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. – 1970. - № 227. – P. 680-685.

УДК 578:632.3:581.19

К.Р. Уразалиев*, А.М. Абекова, Т.А. Базылова, А.К. Даниярова

Казахский Научно-Исследовательский Институт Земледелия и Растениеводства, п. Алмалыбак, Казахстан

*e-mail: kairatu@mail.ru

Молекулярно-генетическое маркирование пшеницы

Проведен скрининг сортов пшеницы селекции КазНИИЗиР на присутствие эффективных генов устойчивости к бурой и стеблевой ржавчине. С использованием молекулярных маркеров генов Lr 32 идентифицирован у 5 из 12 изученных сортов озимой пшеницы и у Lr 21 - 4 из 9 изученных сортов озимой пшеницы. Ген Sr 24 был выявлен у 10 сортов пшеницы из 13, ген Sr 36 не обнаружен у 5 сортов из 14 изученных. Полученные результаты будут использоваться для создания сортов устойчивых к бурой и стеблевой ржавчине с применением MAS-селекции.

Ключевые слова: пшеница, ПЦР, гены устойчивости, стеблевая ржавчина, молекулярные маркеры, праймер.

K.R. Urazaliyev, A.M. Abekova, T.A. Bazylova, A.K. Daniayrova

Molecular genetic labeling of wheat

PCR analysis showed the presence of the desired gene in 5 out of 12 studied varieties of winter wheat: Naz, Arap, Myra, Farabi, sprouts - Lr primers 32 and 4 out of 9 studied varieties of winter wheat: Karasaj, Farabi, seedlings, Nurek primers Lr 21. We studied varieties are marked by the presence or absence of genes Sr36, Sr24. Sr 24 gene was identified in the following varieties: Vitreous 24 Almali; Zhetisu; Karasaj; Naz Sapaly, Farabi, Seedlings, Nurek, Arap, have been identified: Jubilee 60, Myra, Beauharnais - 56; gene Sr 36 is not found in the following varieties : Vitreous 24 Almali, Karasaj, Jubilee 60 and 56 rainfed

Keywords: wheat, PCR resistance genes, rust, molecular markers, primer.

Қ.Р. Уразалиев, А.М. Абекова, Т.А. Базылова, Ә.Қ. Даниярова

Бидайды молекулярлы-генетикалық маркерлеу

ПЦР- анализ зерттелген 12 күздік бидай сорттарының 5-де Lr 32 праймері бар екенін көрсетті, олар: Наз, Арап, Майра, Фараби, Рассад, ал Lr 21 праймерлері зерттелген 9 күздік бидай сорттарының 4-інде анықталды: Қарасай, Фараби, Рассад, Нуреке. ПЦР- анализ Sr 24 гені келесі сорттарда бар екендігін көрсетті: Стекловидная

24, Алмалы, Жетысу, Қарасай, Наз, Сапалы, Фараби, Рассад, Нұреке, Арап; ал келесі сорттарда анықталмады: Юбилейная 60, Майра, Богарная 56. Бізбен зерттелген сорттарда Sr 36, Sr 24 гендерінің бары жоғы маркерлеу арқылы анықталды. Sr 24 гені келесі сорттарда анықталды, олар: Стекловидный 24, Жетысу, Қарасай, Наз, Сапалы, Фараби, Рассад, Нұреке, Арап; ал-Юбелейная-60, Майра, Богарная-56 анықталмады; Sr 36 гені келесі сорттарда анықталмады: Стекловидная-24, Алмалы, Қарасай, Юбелейная-60 және Богарная-56.

Түйін сөздер: бидай, ПЦР, гендік төзімділік, тат, молекулярлы маркерлер, праймер.

В наращивании производства продовольственного зерна и повышении его устойчивости ведущую роль играют озимые зерновые культуры, и прежде всего озимая пшеница, которая обеспечивает основной удельный вес зернового баланса Казахстана. Ежегодно в Казахстане высевается около 13-16 млн. га пшеницы. Бурая и стеблевая ржавчина относятся к наиболее вредоносным заболеваниям пшеницы. По прогнозам ФАО, заболевание может распространиться на восток от Ирана во многих странах Средней Азии, включая Казахстан [1].

Для идентификации носителей генов устойчивости к ржавчинным болезням был использован метод полимеразной цепной реакции (ПЦР). Геномную ДНК выделяли из зерна с использованием СТАВ - метода [2]. Полученную ДНК растворяли в 10мм трис-НСI-буфера, рН 8.0, 1мМ EDTA [3]. Качество выделенной ДНК определяли электрофорезом в 2% агарозном геле в присутствии бромистого этидия и фотографировали в ультрафио-летовом свете помощью гельдокументирующей системы «Quantum ST - 4» (Франция). ПЦР-анализ проводили в амплификаторе Mastercycler (Eppendorf, Германия).

Параметры амплификации генов *Lr21* и *Lr32*: предварительная денатурация при 94°С в течение 2 минуты, затем 35 циклов: 95°С - 30с, 60°С – 1 сек., 72°С – 1 мин. и начальный этап элонгации цепи 72°С - 5мин [4].

Параметры амплификации генов *Sr24* и *Sr36* были следующие: предварительная денатурация при 94°С в течение 5 минут, затем 45 циклов: 95°С - 40с, 63°С – 1 мин., 72°С – 1 мин. и начальный этап элонгации цепи 72°С- 10мин [5].

С помощью диагностических молекулярных маркеров, сцепленных с известными генами устойчивости к бурой ржавчине *Lr21*, был проведен скрининг образцов ДНК 9 сортов озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.). ПЦР-анализ показал присутствие искомого гена у 4 из 9 изученных сортов озимой пшеницы: Карасай, Фараби, Рассад, Нуреке. Ожидаемый размер фрагмента амплификации для локуса *Lr 21* – 130 п.н.

Таблица 1 – Иммунологическая характеристика районированных сортов к бурой ржавчине

№	Происхождение	Реакция к бурой ржавчине, балл %
1	Стекловидная 24	4/80 S
2	Алмалы	4/40 S
3	Жетысу	3/60 MS
4	Карасай	4/40 S
5	Наз	3/60 MS
6	Арап	3/30 MS
7	Майра	-
8	Сапалы	3/60 MS
9	Фараби	3/30 MS
10	Рассад	3/30 MS
11	Нуреке	3/60 MS
12	Юбилейная 60	4/40 S
13	Богарная 56 (стандарт)	7/60

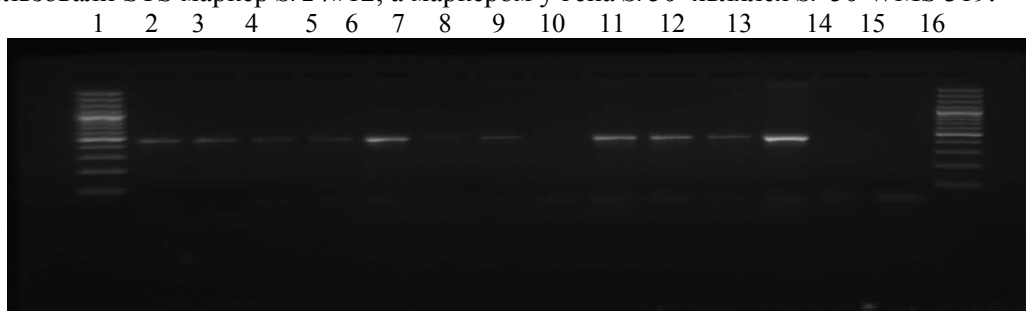
Был проведен ПЦР-анализ на устойчивость к буройлиственной ржавчине *Lr 32* у 12 сортов озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.). ПЦР-анализ показал присутствие искомого гена у 5 из 12 изученных сортов озимой пшеницы: Наз, Арап, Майра, Фараби, Рассад (табл. 2). Ожидаемый размер фрагмента амплификации для локуса *Lr 32* – 120 п.н. [6]. В лаборатории иммунитета и защиты растений ТОО КазНИИЗиР данные 13 сортов испытывали на фоне естественной эпифитотии (таблица 1).

Оценку развития болезни ржавчиной проводили в фазу молочно-восковой спелости по принятой стандартной методике определяя инфекционный тип и степень поражения растений R (Resistant –

устойчивый тип) – 1 балл (поражение 5 %); MR (Moderately resistant – относительно устойчивый тип) – 2 балла (поражение до 20 – (поражение до 20–30%); MS (Moderately susceptible – относительно восприимчивый тип) – 3 балла (поражение до 40–50 %); S (Susceptible – восприимчивый тип) – 4 балла (поражение более 60 %) [7].

Фитопатологическая оценка в условиях искусственного инфекционного фона показала устойчивую и умеренно-устойчивую реакцию этих образцов на заражение бурой ржавчины. Применение молекулярных маркеров позволяет определить наличие или отсутствие генов устойчивости к бурой ржавчине в сортах озимой пшеницы и подтвердить данные фитопатологической оценки.

Проведена идентификация источников с эффективными генами устойчивости к стеблевой ржавчине пшеницы (рисунок 1). В качестве объектов исследований были использованы 13 сортов озимой пшеницы *Triticum aestivum* L. созданные в отделе зерновых культур. Для определения гена *Sr24* – использовали STS маркер *Sr24#12*, а маркером у гена *Sr36* являлся *Sr 36* WMS 319.



1 – Ladder; 2 – Стекловидная 24; 3 - Алмалы; 4 - Жетысу; 5 – Карасай; 6 - Наз; 7 - Юбилейная 60; 8 - Сапалы; 9 –Майра; 10 - Фараби; 11- Рассад; 12 - Нуреке; 13- Арап; 14 - Богарная 56; 15 – Холостой, без ДНК; 16 – Ladder

Рисунок 1 - Амплификация геномной ДНК озимой пшеницы на маркер *Sr24*

Анализ показал, что ген *Sr 24* был выявлен у следующих сортов: Стекловидная 24, Алмалы; Жетысу; Карасай; Наз, Сапалы, Фараби; Рассад; Нуреке; Арап; не выявлено: Юбилейная 60, Майра, Богарная 56, ПЦР-продукты соответствовали размеру 500 п.н. [8]. Ген *Sr 36* не обнаружен у следующих сортов: Стекловидная 24, Алмалы, Карасай, Юбилейная 60 и Богарная 56 (таблица 2).

С использованием молекулярных маркеров, сцепленных с *Sr*- и *Lr*- генами устойчивости, выявлены сорта, несущие эффективные гены устойчивости к бурой и стеблевой ржавчине пшеницы. Применение молекулярно-генетических маркеров позволяет идентифицировать эффективные гены устойчивости в сортах и гибридах, что ускоряет отбор целевых генотипов и повышает эффективность селекционного процесса. Преимуществом селекции с применением молекулярных маркеров (marker assisted selection – MAS) является возможность проведения отбора растений независимо от условий среды и на любой стадии развития [9].

Таблица 2 – Наличие генов устойчивости к болезням у сортов озимой пшеницы

№	Наименование сорта	Lr 21	Lr 32	Sr 24	Sr36
1	Стекловидная 24	-	-	+	-
2	Алмалы	-	-	+	-
3	Жетысу	-	-	+	+
4	Карасай	+	-	+	+
5	Наз	-	+	+	-
6	Арап	-	+	+	-
7	Майра	-	+	-	-
8	Сапалы	-	-	+	-
9	Фараби	+	+	+	-
10	Рассад	+	+	+	-
11	Нуреке	+	-	+	-
12	Юбилейная 60	-	-	-	+
13	Богарная 56 (стандарт)	-	-	-	-

В будущем селекция, основанная на молекулярных маркерах, может значительно увеличить эффективность селекции сельскохозяйственных культур.

Литература

- 1 Biotechnology for agricultural development. Proceedings of the fao international technical conference on "agricultural biotechnologies in developing countries: options and opportunities in crops, forestry, livestock, fisheries and agro-industry to face the challenges of food insecurity and climate change" (ABDC-10). FAO. - 2011. -P. 11.
- 2 Riede C.R., Anderson, J.A. Linkage of RFLP markers to an aluminum tolerance gene in wheat// Crop Sci. - 1996. - No 36. - P. 905–909.
- 3 Chen X.M., Line R. F., Leung H. Genome scanning for resistance gene analogs in rice, barley, and wheat by high resolution electrophoresis// Theor. Appl. Genet. - 1998. -No 97. -P.345-355.
- 4 Wang X., Mulock E., Guus B., McCallum B. Development of EST-derived simple sequence repeat markers for wheat leaf rust fungus, *Puccinia triticina* Ericks // Canadian Journal of Plant Pathology. – 2012. -V. 32:1. -P. 98-107.
- 5 Кохметова А.М., Атишова М.Н. Идентификация источников устойчивости к стеблевой ржавчине пшеницы с использованием молекулярных маркеров // Вавиловский журнал генетики и селекции. - 2012, -том 16, -№ 1. -С. 132-141.
- 6 Hayden M.J., Kuchel H., Chalmers K.J. Sequence tagged microsatellites for the *Xgwm533* locus provide new diagnostic markers to select for the presence of stem rust resistance genes *Sr2* in bread wheat (*Triticum aestivum* L.)// Theor. Appl. Genet. -2004. -No 109. - P. 1641–1647.
- 7 Peterson R.F., Campbell A.B., Hannah A.E. A diagrammatic scale for estimating rust intensity on leaves and stems of cereals // Can. J. Res. -1948. -V. 26. - P.496–500.
- 8 Kokhmetova A., Morgounov A., Rsaliev Sh. *et al.* Wheat germplasm screening for stem rust resistance using conventional and molecular techniques // Czech J. Genet. Plant Breeding. - 2011. - V. 47. -P. 146–154.
- 9 Shi Z.X., Chen X.M., Line R.F. *et al.* Development of resistance gene analog polymorphism markers for the *Yr9* gene resistance to wheat stripe rust// Genome. - 2001. - V. 44. - P. 509–516.

УДК 579.62:575.58

М.С. Уразова*¹, А.С. Джаилбекова², А.К. Молдагулова¹, С.С. Ануарбекова¹, А.К. Туякова¹,
Г.К. Абитаева¹, К.Г. Ли¹, Э.Е. Бекенова¹, С.М. Шайхин¹, К.Х. Алмагамбетов¹

¹Республиканская коллекция микроорганизмов, г. Астана, Казахстан

²Национальный референтный центр по ветеринарии, г. Астана, Казахстан

*e-mail: maira_01@mail.ru

Молочнокислые бактерии, обладающие бактериоциногенной активностью по отношению к *Listeria monocytogenes*

В результате исследования было выделено и определено до вида 50 культур молочнокислых бактерий из различных продуктов питания. Были изучены их морфологические признаки, антагонистическая и бактериоциногенная активности. Выявлены бактериоцин-продуцирующие штаммы, обладающие широким спектром антимикробной активности, в том числе и к *Listeria monocytogenes*

Ключевые слова: МКБ - молочнокислые бактерии, бактериоцин, супернатант, *Listeria*.

M.S. Urazova, A.S. Djailbekova, A.K. Moldagulova, S.S. Anuarbekova, A.K. Tuyakova, G.K. Abitaeva, K.G. Li, E.E. Bekenova, S.M. Shaikhin, K.H. Almagambetov

Lactic acid bacteria which possess bacteriocin activity to control *Listeria monocytogenes*

We picked out and determined to species 50 cultures of lactic acid bacteria from different food stuff. The morphological, antagonistic and bacteriocin activity were investigated and described. Bacteriocin producing strains with antimicrobial activity to different bacteria including *Listeria monocytogenes* were obtained during the investigation

Keywords: lactic acid bacteria, supernatant, bacteriocins, *Listeria*.

М.С. Уразова, А.С. Джаилбекова, А.К. Молдагулова, С.С. Ануарбекова, А.К. Туякова,
Г.К. Абитаева, К.Г. Ли, Э.Е. Бекенова, С.М. Шайхин, К.Х. Алмагамбетов

Listeria monocytogenes-ке бактериоцинді белсенділігін байқататын сүт қышқылды бактериялар

Зерттеу нәтижесінде әр түрлі тамақ өнімдерінен сүтқышқылды бактериялардың 50 түрі алынды және анықталды. Олардың морфологиялық, антагонистік және бактериоциногендік белсенділігі зерттелді. Антимикробтық белсенділігі бар бактериоцин штаммдары бөліп алынды.

Түйін сөздері: сүт қышқылды бактериялар, супернатант, бактериоцин, *Listeria*.