

Давоян Эдвард Румикович

**СОЗДАНИЕ НОВОГО, ГЕНЕТИЧЕСКИ РАЗНООБРАЗНОГО
ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ НА
ОСНОВЕ МЕТОДОВ ХРОМОСОМНОЙ ИНЖЕНЕРИИ И ДНК-
МАРКИРОВАНИЯ**

4.1.2 - Селекция, семеноводство и биотехнология растений

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук

Краснодар 2022

Диссертационная работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Национальный центр зерна имени П.П. Лукьяненко»

Научный консультант: **Беспалова Людмила Андреевна**
доктор сельскохозяйственных наук, академик РАН, профессор, заведующая отделом селекции и семеноводства пшеницы и тритикале ФГБНУ «Национальный центр зерна имени П.П. Лукьяненко»

Официальные оппоненты: **Зеленцов Сергей Викторович**, доктор сельскохозяйственных наук, член-корреспондент РАН, заведующий отделом сои ФГБНУ ФНЦ «Всероссийский научно-исследовательский институт масличных культур имени В.С. Пустовойта»

Щеглов Сергей Николаевич, доктор биологических наук, профессор кафедры генетики, микробиологии и биохимии ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет»

Хатефов Эдуард Балилович, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела генетических ресурсов крупяных культур ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова

Ведущая организация: ФГБНУ «Аграрный научный центр «Донской»

Защита диссертации состоится «27» декабря 2022 г. в 10:00 часов на заседании диссертационного совета Д 24.1.258.01 на базе ФГБНУ «Федеральный научный центр риса», по адресу: 350921, г. Краснодар, пос. Белозерный, 3. Тел. (факс): 8(861) 229-41-98, E-mail: arri_kub@mail.ru

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке ФГБНУ «Федеральный научный центр риса», по адресу: 350921, г. Краснодар, пос. Белозерный, 3 и на сайтах ФГБНУ «Федеральный научный центр риса» - <http://vniirice.ru>, Высшей аттестационной комиссии – <http://vak.minobrnauki.gov.ru>

Автореферат разослан «__» _____ 20__ г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат биологических наук

Л.В. Есаулова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Успешное решение актуальных задач селекции мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) таких как высокая продуктивность, устойчивость к абиотическим и биотическим стрессам, качество зерна в первую очередь основывается на наличии достаточного генетического разнообразия, которое в процессе её доместикации и селекции было в значительной степени обеднено.

В данной работе для решения фундаментальной задачи - расширения аллельного разнообразия культурной пшеницы предлагается два направления. Первое достигается за счёт использования генофонда её диких сородичей, а второе с помощью переноса одного или нескольких генов, определяющих хозяйственно-ценный признак, в коммерческие сорта посредством возвратного скрещивания, дальнейшего их контроля с помощью молекулярных маркеров и, в конечном итоге, получения генотипов с заданными свойствами.

Степень разработанности исследования. В отделе биотехнологии ФГБНУ «НЦЗ им. П.П. Лукьяненко» (в дальнейшем НЦЗ), созданы уникальные синтетические гексаплоидные формы. Геномно-добавленная форма *T. miguschovae* (GGAADD), у которой геном D от *Aegilops tauschii* был добавлен к геномам GA, *T. militinae* и не имеющие аналогов геномно-замещенные формы Авродес и Авролата с замещением генома D мягкой пшеницы на геномы от *Ae. speltoides* и *Ae. umbellulata* соответственно (Жиров, 1980; Жиров, Терновская, 1984). На основе Авродес были получены рекомбинантные синтетические формы RS1 (GBAADS), RS6 (BBAADS) и RS7 (BBAAUS), у которых геном D мягкой пшеницы замещен на рекомбинантный геном от двух дикорастущих видов (Давоян и др., 2012).

С использованием этих форм получено большое число интрогрессивных линий озимой мягкой пшеницы, характеризующихся устойчивостью к болезням, высоким содержанием белка в зерне и другими интересными для селекции морфологическими признаками и биологическими свойствами. Знание цитогенетических особенностей новых линий, изучение их характеристик в отношении важных хозяйственно-биологических свойств сделает более целенаправленным их использование в селекции мягкой пшеницы.

Интеграция ДНК-маркеров в классическую селекцию привела к появлению MAS - селекции с помощью молекулярных маркеров, которая позволяет эффективно решать различные её задачи. Работы с ДНК-маркерами в НЦЗ ведутся по двум основным направлениям: 1) идентификация генов, детерминирующих ценные признаки в интрогрессивных линиях; 2) MAS, направленная на создание сортов пшеницы с заданными качествами. В рамках данных направлений проводится анализ исходного материала, отбор на целевые гены, маркер-контролируемый беккросс и пирамидирование генов.

Цель и задачи исследования. Цель настоящего исследования заключалась в создании нового, генетически разнообразного исходного материала для селекции мягкой пшеницы на основе методов хромосомной инженерии и ДНК-маркирования. Для достижения цели были поставлены следующие задачи.

1. Изучить интрогрессивные линии, полученные с использованием синтетических форм *T. miguschovae*, Авродес, Авролата, RS1, RS6 и RS7 по морфо-биологическим признакам. Дать оценку по устойчивости к болезням, элементам продуктивности, содержанию и качеству белка в зерне, хлебопекарным характеристикам.

2. Определить генетическую природу устойчивости к листовой ржавчине у интрогрессивных линий. Идентифицировать и изучить наследование генов устойчивости к данной болезни.

3. Отобрать цитологически стабильные интрогрессивные линии мягкой пшеницы. Установить форму передачи генетического материала от синтетических форм *T. miguschovae*, Авродес, Авролата, RS1 и RS7 мягкой пшенице.

4. С помощью ДНК- маркеров изучить интрогрессивные линии по аллельному состоянию генов, детерминирующих устойчивость к болезням, редукцию высоты растений, контролирующих синтез амилозы и определяющих состав крахмала в зерне, контролирующих чувствительность растений к фотопериоду и яровизации.

5. Разработать схему маркер-контролируемого беккроссного отбора и создать линии-доноры, содержащие единичные гены и пирамиды генов устойчивости к листовой ржавчине, линии мягкой пшеницы с модифицированным соотношением амилозы и амилопектина.

6. С использованием методов экологической селекции и ДНК- маркирования создать высокоадаптивные, высокопродуктивные, устойчивые к болезням и имеющие хорошие хлебопекарные качества сорта мягкой пшеницы.

Научная новизна. Впервые с применением комплекса селекционных, цитологических, цитогенетических и молекулярных методов изучены 343 новые интрогрессивные линии мягкой пшеницы с генетическим материалом *T. miguschovae*, *Ae. speltoides*, *Ae. umbellulata*. Установлено, что полученные линии имеют широкий полиморфизм по всем изученным признакам. Выделены линии с высоким содержанием белка и клейковины в зерне. Отобраны линии, сочетающие групповую устойчивость к трем и более болезням, с хорошими морфологическими признаками и биологическими свойствами.

Методами изучения конъюгации хромосом в метафазе I мейоза, C-banding и FISH выявлено, что передача генетического материала от синтетических форм в большинстве случаев происходит посредством транслокаций и их комбинацией с замещением целых хромосом. В линиях, полученных с участием *T. miguschovae*, впервые идентифицированы

замещения по хромосомам 4D(4D^t), 5D(5D^t) и 6D(6D^t) от *Ae. tauschii*. Выявлены ранее не известные транслокации от *Ae. speltoides* T2A, T4B, T1D, T2D, T3D, T5D, T6D и замещения хромосом 1B(1S), 4D(4S), 5D(5S), 7D(7S). Впервые получены транслокации 2DS.2DL-2UL и T.7DL.7DS-7US от *Ae. umbellulata*.

Впервые проведен ДНК-анализ, созданных интрогрессивных линий и получена информация о наличии у них генов хозяйственно-ценных признаков. Выявлены линии, предположительно несущие новые гены устойчивости к листовой ржавчине, полученные от *T. militinae*, *Ae. tauschii*, *Ae. speltoides* и *Ae. umbellulata*.

В рамках MAS разработана схема маркер-контролируемого беккроссного отбора, с применением которой получены линии-доноры, содержащие единичные гены, а также пирамиды, состоящие из двух или трех генов устойчивости к листовой ржавчине. Получены линии мягкой пшеницы с модифицированным соотношением амилозы и амилопектина, несущие нуль-аллели *Wx*-генов.

Совместно с селекционерами отдела селекции и семеноводства пшеницы и тритикале НЦЗ созданы новые сорта мягкой пшеницы Вызов, Кулич и Данко.

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты, полученные в настоящей работе, демонстрируют высокую эффективность создания и использования синтетических форм для решения фундаментальной задачи - расширения генетического разнообразия мягкой пшеницы за счет генофонда ее диких сородичей.

Созданные интрогрессивные линии представляют собой ценный для селекции мягкой пшеницы исходный материал и могут быть использованы в качестве новых доноров устойчивости к комплексу грибных болезней, повышенного содержания белка и клейковины, улучшенных технологических свойств зерна. Линии, сочетающие хорошие хлебопекарные показатели с групповой устойчивостью к болезням, рекомендованы для изучения в конкурсном сортоиспытании.

Интрогрессивные линии с новыми, ранее не известными транслокациями и замещением хромосом, а также линии с идентифицированными генами хозяйственно-важных признаков, могут служить основой для дальнейшей селекционной работы по передаче генетического материала от дикорастущих видов, а также стать модельными объектами в фундаментальных исследованиях, направленных на понимание механизмов интрогрессии чужеродного хроматина в геном мягкой пшеницы. Информация о наличии генов ценных признаков в сортах и линиях мягкой пшеницы является важной для подбора родительских форм и разработки селекционных схем.

Полученные с применением схемы маркер-контролируемого беккроссного отбора линии-доноры генов устойчивости к листовой ржавчине *Lr9*, *Lr19*, *Lr24* и *Lr37* интенсивно

вовлекаются в селекционный процесс. Пирамидирование этих генов в сочетании с генами, утратившими эффективность, и генами возрастной устойчивости позволит, в значительной степени, повысить генетическое разнообразие сортов и их адаптивность к популяции патогена.

Отобранные линии с идентифицированными в них аллелями генов *Wx* представляют интерес для селекционных программ, направленных на улучшение технологических качеств зерна и получение сортов мягкой пшеницы с новыми свойствами крахмала.

Переданные на Государственное сортоиспытание сорта альтернативного образа жизни Вызов и сорта яровой мягкой пшеницы Кулич и Данко, позволят расширить возможности производства в условиях, неблагоприятных для возделывания озимой мягкой пшеницы.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

1. Синтетические формы Авродес, Авролата, *T. miguschovae*, RS1, RS6 и RS7 являются эффективными «мостиками» для передачи генетического материала от диких сородичей мягкой пшенице. Полученные с их применением интрогрессивные линии отличаются генетическим разнообразием, обладают целым рядом ценных признаков и представляют большой интерес для селекции мягкой пшеницы.

2. Применяемые в исследовании синтетические формы позволяют существенно реконструировать геном мягкой пшеницы. Интрогрессия генетического материала дикорастущих видов (*T. militinae*, *Ae. tauschii*, *Ae. speltooides*, *Ae. umbellulata*) посредством синтетических форм в основном происходит с помощью транслокаций и их комбинацией с замещением целых хромосом

3. Устойчивость интрогрессивных линий к листовой ржавчине может контролироваться как известными генами устойчивости, так и новыми. Отобраны линии с двумя, тремя и более генами устойчивости к данной болезни.

4. Интрогрессивные линии могут нести чужеродные аллели генов хозяйственно-ценных признаков, отличные от таковых у мягкой пшеницы.

5. Эффективность получения линий-доноров с генами интереса зависит от выбора оптимальной схемы маркер-контролируемого беккросса и наличия тесно сцепленных с передаваемыми генами диагностических ДНК-маркеров.

6. Характеристика сортов мягкой пшеницы, созданных с использованием методов экологической селекции и ДНК-маркирования.

Степень достоверности и апробация работы. Результаты, представленные в диссертационной работе, достоверны, что подтверждается многолетними данными, полученными в рамках государственного задания по темам: 0690-2014-0007 «Создать новые синтетические формы, интрогрессивные линии мягкой пшеницы с ценными признаками диких сородичей с использованием методов геномной и хромосомной инженерии» и 0690-2014-0006

«Использовать методы молекулярно-генетического маркирования для исследования и селекции зерновых культур», в рамках проектов, поддержанных РФФИ: 11-04-96542-р_юг_ц «Использование методов ДНК-маркирования и цитологического анализа для идентификации ценных генотипов мягкой пшеницы, полученных на основе хромосомной инженерии» 2011-2012 гг.; 13-04-9654511-04-96542-р_юг_а «Изучение генофонда диких сородичей для расширения генетического разнообразия мягкой пшеницы по устойчивости к болезням» 2013-2015 гг.

Достоверность результатов исследования также подтверждается достаточным количеством публикаций и широким представлением на научных форумах различного уровня в том числе: Международных научно-практических конференциях: «Генетические ресурсы культурных растений» Санкт-Петербург, 2001; «Безостая1 – 50 лет триумфа», Краснодар, 2005; «Генетические ресурсы и геномика пшеницы» Новосибирск, 2011; "Современное состояние, проблемы и перспективы развития аграрной науки", ФГБУН "НИИСХ Крыма". 2019, 2020; «Растения и микроорганизмы: биотехнология будущего» PLAMIC2020, Саратов 2020; III, VI и VII Съездах ВОГИС (Москва, 2004; Ростов-на-Дону, 2014; Санкт-Петербург, 2019); VIII международный конгресс «Биотехнология: состояние и перспективы развития» Москва, 2015; Международный научный симпозиум «Генетика и геномика растений для продовольственной безопасности» Новосибирск, 2016; V и VI Международной конференции «Генетика, геномика, биоинформатика и биотехнология растений» PlantGen, Новосибирск, 2019, 2021.

Публикации. Материалы исследований представлены в 82 публикациях, среди которых 22 входят в рецензируемые издания ВАК, 12 – в базу данных SCOPUS.

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 402 страницах машинописного текста, состоит из введения, 5 глав, заключения, рекомендаций, списка литературы и приложения, содержит 64 таблицы и 53 рисунка. Список литературы включает 674 источника, из них - 88 отечественных и 586 зарубежных авторов.

Личный вклад автора. Диссертационная работа является результатом исследований, проведенных в НЦЗ в период с 2001 по 2021 гг.

Личный вклад автора заключается в разработке плана исследований, постановке цели и задач, научных экспериментов и опытов, обработке, интерпретации, теоретическом обобщении и публикации полученных результатов.

Экспериментальные данные получены автором лично и совместно с коллегами отдела биотехнологии, отдела селекции и семеноводства пшеницы и тритикале НЦЗ, лаборатории функциональной морфологии хромосом Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, лаборатории молекулярной генетики и цитогенетики растений ИЦиГ

СОРАН, лаборатории прикладной геномики и частной селекции сельскохозяйственных растений ФГБНУ ВНИИСБ.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В главе освещаются сведения об использовании генофонда диких сородичей для улучшения мягкой пшеницы. Приводятся примеры интрогрессии ценных признаков от видов рода *Triticum*, *Aegilops*, *Agropyron* и *Secale*. Показаны методы передачи генетического материала от дикорастущих видов, особое внимание уделяется методам создания амфидиплоидов и получения дополненных и замещенных линий. Описаны виды ДНК-маркеров, преимущества их применение для идентификации ценных признаков мягкой пшеницы и методы селекции, основанные на их использовании. Освещаются мировые и отечественные достижения в улучшении мягкой пшеницы, связанные с применением MAS и дальнейшие перспективы этого направления.

ГЛАВА II. УСЛОВИЯ, МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводились с 2001 по 2021 год в отделе биотехнологии, и отделе селекции и семеноводства пшеницы и тритикале НЦЗ. Полевые испытания осуществлялись на опытных участках, расположенных в центральной почвенно-климатической зоне Краснодарского края.

Исходным материалом для исследования служили созданные в отделе биотехнологии НЦЗ синтетические формы *T. miguschovae*, Авродес, Авролата, RS1, RS6 и RS7; интрогрессивные линии мягкой пшеницы, полученные от скрещивания синтетических форм с восприимчивыми к листовой ржавчине сортами, Краснодарская 99, Аврора, Кавказ, Безостая 1 и Скифьянка; сорта, линии и гибридные растения мягкой пшеницы, созданные в отделе селекции и семеноводства пшеницы и тритикале НЦЗ.

Методы оценки и отбора перспективных линий. Учет поражения листовой ржавчиной (*Puccinia triticina* Eriks.) проводили по международной шкале Майнса и Джексона (Mains, Jakson, 1926). Устойчивость к желтой ржавчине (*P. striiformis* f. sp. tritici) определяли по шкале Гасснера и Штрайба (Gasner, Straib, 1934). К устойчивым относили растения с типом реакции 0 (иммунные), 1 (высокоустойчивые) и 2 (умеренно устойчивые). Устойчивые растения с промежуточным типом реакции от 0 до 1 (единичные очень мелкие пустулы с некрозом)

обозначали баллом 01. Восприимчивыми считались растения с типом реакции 3–4. Интенсивность поражения мучнистой росой (*Blumeria graminis* f. sp. tritici) и септориозом (*Septoria tritici* Roberge et. Desm) оценивали по шкале, предложенной Гешеле (Пересыпкин, 1979).

Ежегодно проводилась оценка материала по следующим признакам: продолжительность вегетационного периода; высота растений; содержание белка и клейковины; качество клейковины; масса 1000 зерен и др. У лучших по фенотипическим характеристикам линий в отделе технологии и биохимии зерна НЦЗ изучались технологические качества зерна.

Цитологические методы исследований. Подсчёт числа хромосом в соматических клетках выполняли на временных давленных препаратах кончиков первичных корешков (Waninge, 1965). Природу переданного чужеродного материала определяли по наличию, частоте и конфигурации мультивалентов в М1 мейоза у гибридов от скрещивания анализируемых линий с сортом Краснодарская 99.

Дифференциальное окрашивание хромосом (C-banding) проводили в Институте общей генетики им. Н.И. Вавилова согласно методике, разработанной Е.Д. Бадаевой и соавторами (Badaeva et al., 1994).

Генотипирование гибридного материала мягкой пшеницы методом флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) проводили в Институте цитологии и генетики СО РАН по опубликованной ранее методике (Salina et al., 2006).

Молекулярные методы исследований. Геномную ДНК пшеницы выделяли из растительной ткани с помощью коммерческого набора diaGene производство «ДИАЭМ».

Идентификацию генов осуществляли с использованием ПЦР с праймерами, маркирующими гены: устойчивости к листовой ржавчине: *Lr9*, *Lr10*, *Lr19*, *Lr21*, *Lr22a*, *Lr24*, *Lr26*, *Lr28*, *Lr32*, *Lr34*, *Lr35*, *Lr37*, *Lr39*, *Lr47*, *Lr51*, *Lr50*, *Lr66*; определяющими состав крахмала: *WxA1*, *WxB1*, *WxD1*; детерминирующими редукцию высоты: *Rht1*, *Rht2*, *Rht11*, *Rht8*; чувствительность к фотопериоду и потребность в яровизации: *PpdD1*, *Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Vrn-D1*.

Реакционная смесь объемом 25мкл содержала 1×буфер для Taq-ДНК-полимеразы, 2мМ MgCl₂, по 0.2мМ каждого dNTP, 12.5мМ каждого праймера, 50 нг ДНК и 1ед. Taq-полимеразы. Продукты ПЦР разделяли с помощью электрофореза в агарозном геле с 0.5×буфером TBE. Гели окрашивали бромистым этидием и фотографировали в ультрафиолетовом свете с помощью фотобокса «INFINITI 1000». В качестве маркера молекулярной массы использовали ДНК-маркер М 24 100 bp «СибЭнзим».

Статистические методы исследования. Статистический анализ данных включал как стандартные биометрические методы, так и методы многомерного статистического анализа. Из первой категории использовался однофакторный дисперсионный анализ с последующим

вычислением наименьшей существенной разности НСР (Доспехов, 2011). Для оценки связей между признаками применяли парный коэффициент корреляции Пирсона (Лакин, 1990).

ГЛАВА III. СЕЛЕКЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ИНТРОГРЕССИВНЫХ ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

С использованием синтетических форм *T. miguschovae*, Авродес, Авролата, RS1, RS6 и RS7 получены новые интрогрессивные линии озимой мягкой пшеницы с генетическим материалом *T. militinae*, *Ae. tauschii*, *Ae. speltoides* и *Ae. umbellulata*.

Для детального изучения и проведения анализов были отобраны 343 наиболее интересных в качестве источников ценных признаков линии. Для краткости изложения линиям было дано буквенное обозначение в зависимости от их происхождения (табл. 1).

Таблица 1. Наименование, происхождение и количество интрогрессивных линий

Краткое обозначение линии	Комбинация скрещивания	Поколение	Количество линий
МБ	<i>T. miguschovae</i> x Безостая 1	BC ₂ F ₂₄ - BC ₅ F ₂₀	29
МК	<i>T. miguschovae</i> x Кавказ	BC ₂ F ₂₄ - BC ₅ F ₂₀	44
СМБ	(<i>T. miguschovae</i> x Безостая 1) x Скифянка	BC ₂ F ₂₄ - BC ₅ F ₂₀	48
СМК	(<i>T. miguschovae</i> x Кавказ) x Скифянка	BC ₂ F ₁₅ - BC ₄ F ₁₂	35
АА	Авродес x Аврора	BC ₂ F ₂₄ - BC ₅ F ₂₀	37
АБ	Авродес x Безостая1	BC ₂ F ₁₀ - BC ₄ F ₆	24
АК	Авродес x Кр. 99	BC ₂ F ₁₀ - BC ₄ F ₆	35
КАБ	(Авродес x Безостая1) x Кр. 99	BC ₂ F ₁₀ - BC ₄ F ₆	12
GS	RS1 x <i>T. aestivum</i>	BC ₂ F ₆ -BC ₃ F ₅	34
SM	RS6 x <i>T. aestivum</i>	BC ₂ F ₇ -BC ₃ F ₆	24
SU	RS7 x <i>T. aestivum</i>	BC ₂ F ₆ -BC ₃ F ₅	21

3.1. Хозяйственно-биологическая оценка интрогрессивных линий

3.1.1. Оценка интрогрессивных линий по устойчивости к основным болезням

Ежегодно линии оценивались по устойчивости к таким вредоносным и широко распространенным болезням пшеницы как листовая и желтая ржавчины, мучнистая роса и септориоз. Многолетние данные, полученные при оценке материала показали, что 89% из 343 изученных линий обладают устойчивостью к листовой ржавчине, 45% - к жёлтой ржавчине, 50% - к мучнистой росе и 67% - к септориозу (рис.1). Поскольку линии наследуют устойчивость от синтетических форм, то для многих из них характерно проявление групповой резистентности к перечисленным болезням. Так, из общего числа линий, 22% устойчивы к

четырёх, 35% - к трём и 24% - к двум болезням. В каждой комбинации скрещивания большинство линий имеют устойчивость к двум и более болезням. В комбинации КАБ доля таких составила 100%.

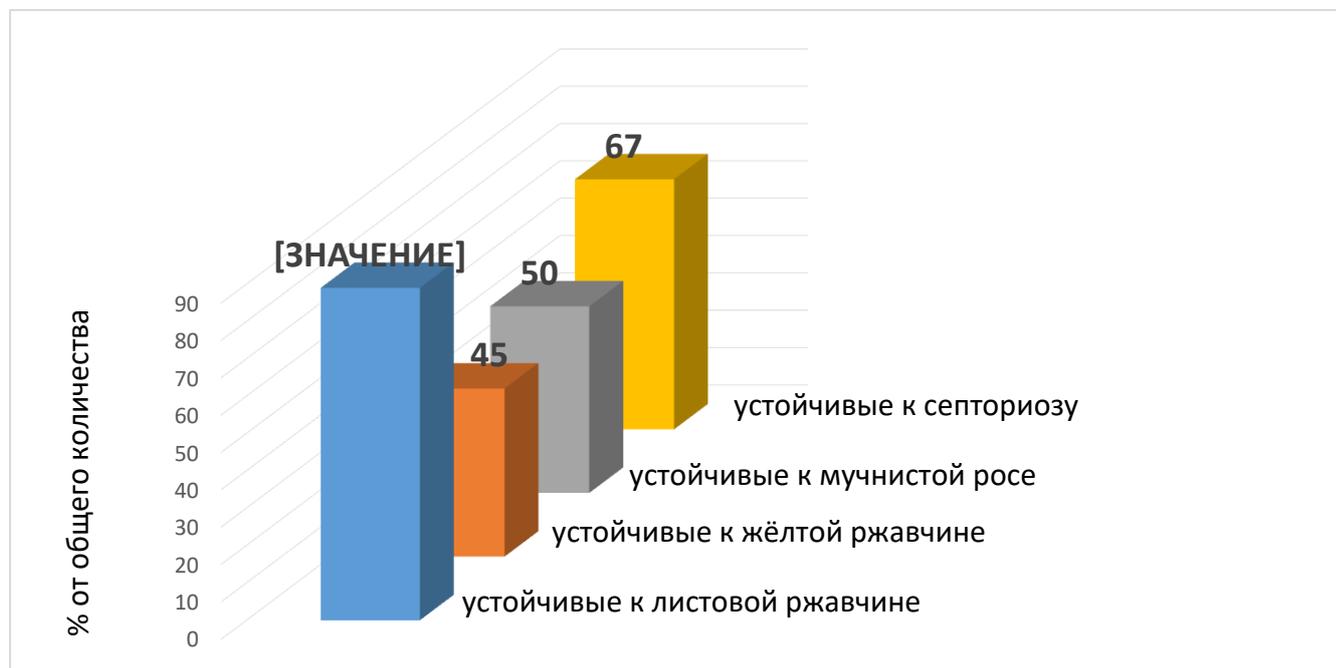


Рисунок 1. Количество линий, устойчивых к листовой и желтой ржавчинам, мучнистой росе и септориозу, % от общего количества.

Одной из основных задач при создании интрогрессивных линий являлась передача им устойчивости к листовой ржавчине от диких сородичей. Полевая оценка показала, что большинство из них несут устойчивость к данной болезни и различаются по ее степени (табл. 2). Отобрано 306 устойчивых к листовой ржавчине линий, что составило 89% от общего числа. Из них 34% имели высокий уровень устойчивости с типом реакции 01, 35% были устойчивы (тип реакции - 1) и 20% умеренно-устойчивые (тип реакции 2).

Таблица 2. Количество линий мягкой пшеницы с различным типом реакции к листовой ржавчине, (2015-2019 гг.)

Комбинация скрещивания	Изучено линий	Количество линий с типом реакции (балл)							
		01		1		2		3-4	
		шт.	%	шт.	%	шт.	%	шт.	%
МК	44	9	20	21	48	9	20	5	12
МБ	29	10	34	9	31	6	20	4	15
СМК	35	17	49	13	37	5	14	-	-
СМБ	48	14	29	18	38	16	33	-	-
АА	37	12	32	15	41	6	16	4	11
АБ	24	4	17	5	21	5	21	10	41
АК	35	17	49	8	23	6	17	4	11

КАБ	12	3	25	5	41	3	25	1	9
GS	34	17	49	8	24	3	9	6	18
SM	24	14	58	8	34	1	4	1	4
SU	21	1	5	11	52	7	33	2	10
Всего	343	118	34	121	35	67	20	37	11

Наибольший процент высокоустойчивых линий выявлен в комбинациях SM (58%). Доля таковых в комбинациях CMK, AK, GS составила 49%. Высокий процент восприимчивых к болезни линий отмечен в комбинации AB, который составил 41%. В комбинациях CMK и CMB таковых не выявлено. Синтетические формы Авродес, RS6 и RS7 за все годы изучения имели высокий уровень устойчивости с типом реакции 01. *T. miguschovae*, Авролата и RS1 стабильно проявляли полный иммунитет, симптомы поражения отсутствовали. В тоже время сорта реципиенты были восприимчивы к возбудителю листовой ржавчины (тип реакции в баллах 3-4).

3.1.2. Гибридологический анализ устойчивости линий к листовой ржавчине

Для анализа было отобрано по три устойчивых к болезни линии из комбинаций МК, МБ, и АА. Гибриды F₁ от скрещивания линий с восприимчивым сортом Краснодарская 99 (Кр. 99), за исключением АА/10, были устойчивыми, что свидетельствует о доминантном характере проявления признака. Восприимчивость растений F₁ от скрещивания Авроры с линией АА/10 говорит о том, что устойчивость у последней контролируется рецессивным геном или генами.

Число генов, контролирующих устойчивость, определяли на основе расщепления по этому признаку в популяциях F₂ (табл. 3). В соответствии с полученными данными, к линиям, имеющим один доминантный ген, относятся МК/7, МБ/8, МБ/12, АА/6 и АА/21, а соотношение устойчивых и восприимчивых растений близко к теоретически ожидаемому (3:1). Устойчивость к листовой ржавчине линии МК/11 контролируется двумя доминантными комплементарно взаимодействующими генами. К линиям с двумя доминантными генами относятся МБ/6 и МК/1. Расщепление по устойчивости, соответствующее соотношению 7:9, ожидаемому для двух дубликатных рецессивных генов, имела линия АА/10.

Таблица 3. Расщепление гибридов F₂ от скрещивания устойчивых к листовой ржавчине линий с восприимчивым сортом Аврора

Комбинация скрещивания	Соотношение устойчивых и восприимчивых растений		χ^2	P
	фактическое	теоретическое		
МБ/8 x Кр. 99	110:41	3:1	0,11	0,50-0,25
МБ/12 x Кр. 99	90:35	3:1	0,16	0,75-0,50
МБ/6 x Кр. 99	91:9	15:1	0,55	0,90-0,75

МК/1 x Кр. 99	123:6	15:1	0,27	0,50-0,25
МК/11 x Кр. 99	53:31	9:7	0,43	0,50-0,25
МК/7 x Аврора	82:23	3:1	0,10	0,50-0,25
АА/6 x Кр. 99	73:29	3:1	0,64	0,50-0,25
АА/10 x Кр. 99	55:63	7:9	0,54	0,50-0,25
АА/21 x Кр. 99	104:41	3:1	0,32	0,75-0,50

Чтобы подтвердить предположение о наличии идентичных генов устойчивости, линии были скрещены между собой по неполной диаллельной схеме (табл. 4). Доминантный ген устойчивости линии МК/7 независим от таковых в МК/1 и МК/11. Расщепление устойчивых и восприимчивых растений в F₂ соответствует теоретически ожидаемому 63:1 и 57:7. В первом случае это результат взаимодействия трёх доминантных дупликатных генов, во втором - двух доминантных комплементарных генов с одним независимым доминантным. В комбинации МК/1 x МК/11 расщепление близко к теоретически ожидаемому 15:1, вероятно, что эти линии имеют по одному идентичному доминантному гену. Расщепление для МБ/8 x МБ/6 и МБ/12 x МБ/6 характерно для независимого наследования трёх доминантных генов. В F₂ от скрещивания линий МБ/8 и МБ/12 также, как и АА/6 и АА/21, расщепление не было обнаружено, поэтому можно предположить, что гены у них либо идентичны, либо тесно сцеплены. В АА/6 x АА/10 и АА/10 x АА/21 наблюдалось расщепление близкое к теоретически ожидаемому (55:9) при независимом наследовании одного доминантного и двух рецессивных генов.

Таблица 4. Расщепление гибридов F₂ от скрещивания устойчивых к листовой ржавчине линий между собой

Комбинация скрещивания	Соотношение устойчивых и восприимчивых растений		χ^2	P
	фактическое	теоретическое		
МК/1 x МК/11	199:18	15:1	0,34	0,75-0,50
МК/1 x МК/7	224:5	63:1	0,41	0,75-0,50
МК/11 x МК/7	159:48	57:7	0,71	0,75-0,50
МБ/8 x МБ/12	247:0	-	-	-
МБ/8 x МБ/6	271:6	63:1	0,40	0,75-0,50
МБ/12xМБ/6	300:5	63:1	0,26	0,75-0,50
АА/6 x АА/10	214:37	55:9	0,05	0,90-0,75
АА/6 x АА/21	188:0	-	-	-
АА/10 x АА/21	188:36	55:9	0,16	0,75-0,50

Таким образом линии, полученные на основе *T. miguschovae* и Авродес, отличаются между собой как по числу генов устойчивости, так и по характеру их проявления и могут иметь как идентичные, так и отличные гены устойчивости к листовой ржавчине.

Идентификацию генов проводили путём анализа скрещивания отобранных линий с почти изогенными линиями сорта Thatcher - носителями известных генов устойчивости *Lr35*,

Lr36, *Lr39* и *Lr50*, переданных от дикорастущих видов. Наличие расщепления во всех гибридных комбинациях предполагает, что исследуемые линии защищены генами устойчивости к листовой ржавчине, отличными от искомым. Исключение составила комбинация МБ/6 х *Lr50*. Расщепление в данном случае не было обнаружено. Предположительно, линия МБ/6 может нести ген устойчивости, идентичный *Lr50*.

3.1.3. Оценка интрогрессивных линий по морфологическим признакам и биологическим свойствам

В процессе работы линии систематически оценивались по таким признакам как: форма колоса, высота растений, продолжительность вегетационного периода и др. По всем изучаемым признакам наблюдался широкий полиморфизм. По форме колоса линии разделяются на булавовидные, веретеновидные и призматические, при этом встречаются как остистые и безостые, так и полуостистые формы. На рисунках 2 и 3 представлены колосья линий, полученных с использованием синтетических форм *T. miguschovae* и Авродес.



Рисунок 2. Колосья линий пшеницы, полученные с участием формы *T. miguschovae*



Рисунок 3. Колосья линий пшеницы, полученные с участием формы Авродес

Линии имели существенные различия по таким признакам, как длина колоса, число колосков в колосе и число зёрен в колосе. Высота растений варьировала от 62 см у линии СМК/25 до 110 см у МБ/31. Продолжительность вегетационного периода также различалась и составляла от 268 до 282 суток в линиях МБ/26 и МК/9, соответственно. Наиболее длительный таковой отмечен у линий, полученных с участием сорта Кавказ.

3.1.4. Оценка интрогрессивных линий по элементам продуктивности

Важным показателем характеристики селекционного потенциала новых линий, является их оценка по продуктивности. Зачастую, передача чужеродного генетического материала в мягкую пшеницу, происходит с понижением продуктивности у последней. Тем не менее, среди производных можно отобрать формы с урожайностью, равной и даже превышающей таковую у рекуррентного сорта (Zeven & Waning, 1986; Knott, 1989; Барышева, 1990).

Для оценки показателей продуктивности отобрано 38 наиболее интересных по фенотипу линий. В таблице 5 приведена характеристика лучших из них за 2019г.

Таблица 5. Компоненты урожайности линий озимой мягкой пшеницы, (2019 г.)

Название линии	Масса 1000 зерен, г	Количество продуктивных колосьев, шт/1 м ²	Масса зерна г., 1м ²
МБ/1	43,4	479	488,7
МБ/26	44,8	398	440,4
МБ/31	46,4	388	376,2
СМБ/12	47,7	370	440,0
СМК/36	41,5	481	490,7

AA/5	45,4	418	429,5
AA/6	45,7	330	400,5
AB/11	45,8	518	383,0
GS/1	47,8	340	472,0
GS/24	45,8	418	467,0
GS/33	45,9	451	436,7
SU/15	45,2	406	486,8
SU/16	46,1	414	461,5
Кр. 99. ст.	42,3	435	437,5
НСР ₀₅	1,5	49	48,6

Масса 1000 зерен варьировала от 41,5 г у линии СМК/36 до 47,8г у GS/1, при среднем значении у сорта Краснодарская 99 – 42,3 г. У линий: МБ/26, МБ/31, СМБ/12, АА/5, АА/6, АБ/11, GS/1, GS/24, GS/33, SU/15 и SU/16 величина значений данного признака достоверно выше чем у стандарта. По массе зерна с 1м² линии МБ/1, СМК/36, и SU/15 превышали стандарт.

Превышение по этому показателю у МБ/1 и СМК/36 очевидно связано с тем, что они сформировали больше продуктивных колосьев 479 и 481 соответственно относительно 435 у сорта Краснодарская 99, а у линии SU/15 - за счет более крупного зерна (масса 1000 зёрен. – 45,2г).

3.1.5. Оценка интрогрессивных линий по содержанию белка и клейковины

Показатели содержания белка в зависимости от условий вегетации (2017-2019 гг.), варьировали от 13,4% у линии GS/1 до 17,8% у линии АА/6 (рис. 4). У большинства линий, за исключением АА/21, АК/5, SM/2 и GS/1, содержание белка превышало 14%. Средние значения содержания сырой клейковины составляли от 25,08% до 41,33% у линий МБ/30 и АБ/11 соответственно.

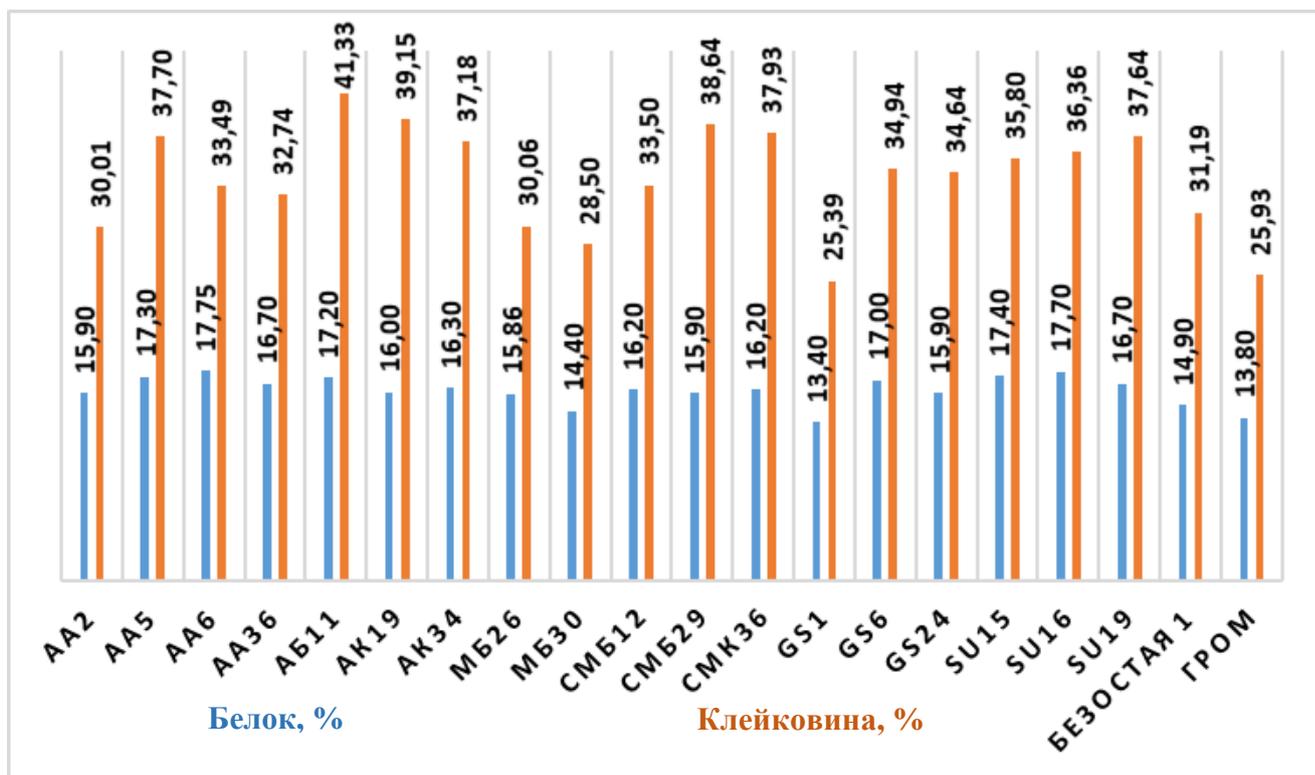


Рисунок 4. Содержание белка и клейковины у интрогрессивных линий мягкой пшеницы, %, (2017-2019 гг.)

По результатам дисперсионного анализа, для этих признаков установлены генотипические различия. Доля этих различий составляла 90% для признака «содержание белка» и 80% для признака «содержание клейковины» (табл. 6). При этом различия по годам выращивания в первом случае было незначительным и составило 1%, в то время как для признака «содержание клейковины» этот показатель составил 8%.

Таблица 6. Результаты двухфакторного перекрестного анализа признаков-содержание белка и сырой клейковины в линиях и сортах пшеницы, (2017-2019 гг.)

Изменчивость	SS	df	mS	F	F _{0,05}	p ⁱⁿ , %
«Содержание белка»						
Генотипическая	1138,36	42,00	27,10	121,18	1,43	90%
Между годами	15,92	2,00	7,96	35,60	3,03	1%
Взаимодействие	75,45	84,00	0,90	4,02	1,32	5%
Остаточная	57,26	256,00	0,22			4%
«Содержание клейковины»						
Генотипическая	8594,93	42,00	204,64	59,52	3,03	80%
Между годами	819,40	2,00	409,70	119,17	1,43	8%
Взаимодействие	731,99	84,00	8,71	2,53	1,32	4%
Остаточная	880,12	256,00	3,44			8%

Селекция на высокое содержание белка осложняется отрицательным взаимодействием этого признака с урожайностью, где фенотипические корреляции для этих двух признаков

обычно колеблются от - 0,30 до - 0,60 (Klindworth et al., 2009). Многие авторы связывают это с тем, что вследствие интенсивной селекции мягкая пшеница утратила генетическое разнообразие по этому признаку (Johnson, 1973; Mettin et al., 1973; Жиров, 1989). Поэтому, поиск новых доноров и отбор генотипов, обладающих хорошими показателями как по содержанию белка, так и урожайности, является важной задачей для селекционеров. В то же время, нами выделены линии МБ/26, СМК/36, АА/5, АА/6, АА/35, АА/36, GS/6, GS/24, SU/15 и SU/1, которые сочетают хорошие показатели продуктивности, содержания белка и клейковины. Эти линии отобраны для дальнейшего изучения.

3.1.6. Оценка интрогрессивных линий по технологическим свойствам и хлебопекарным качествам

Одним из основных лимитирующих факторов для использования интрогрессивных линий в селекции являются их технологические свойства, которые определяют хлебопекарные качества.

Характеристика отобранных линий по технологическим свойствам и хлебопекарным качествам зерна за 2019 г. приведена в таблице 7. По содержанию клейковины все линии превышали стандарт. Однако по качеству клейковины большинство линий уступают таковому. Показатель ИДК-1 варьировал от 70 у линии СМБ/29 до 105 у GS/6 и SU/15. Выделены линии МБ/26, СМБ/29, СМК/36, АА/5, АА/36, SU/16 и SU/19 с I группой клейковины, которые имеют высокие показатели содержания и белка, и клейковины. Вариабельность по объемному выходу хлеба составила от 535 мл у линии СМБ/12 до 680 мл у SU/16.

Таблица 7. Характеристика линий по некоторым технологическим свойствам и хлебопекарным качествам зерна, (2019г.)

Линия	Содержание протеина в абс. сухом веществе, %	Содержание сырой клейковины, %	Качество клейковины		Объемный выход хлеба, мл	Хлебопекарная оценка, (балл)
			ИДК-1	Группа ГОСТ		
МБ/26	16,0	32,0	75	I	600	4,7
СМБ/12	16,1	34,2	95	II	535	3,8
СМБ/29	15,9	39,4	70	I	630	4,7
СМК/36	16,7	36,1	75	I	615	4,6
АА/5	17,5	37,8	75	I	580	4,5
АА/6	16,3	33,8	90	II	595	4,6
АА/35	15,8	30,1	100	II	640	4,5
АА/36	16,6	32,7	75	I	600	4,5
GS/6	17,0	36,1	105	III	555	3,9
GS/24	16,3	36,0	85	II	620	4,5
SU/15	17,8	36,8	105	III	545	3,8

SU/16	17,3	35,8	75	I	680	4,6
SU/19	17,2	36,4	80	I	675	4,6
Безостая1	15,0	29,9	75	I	605	4,5

Как и ожидалось, исследуемые линии различались и по общей хлебопекарной оценке. Линии AA/5 AA/35, AA/36, и GS/24 находились на одном уровне с сортом Безостая1 (4,5 балла), а МБ/26, СМБ/29, АА/6, СМК/36, SU/16 и SU/19 имели лучшие значения. Высокая оценка 4,7 балла отмечена у линий МБ/26 и СМБ/29 (рис. 5).

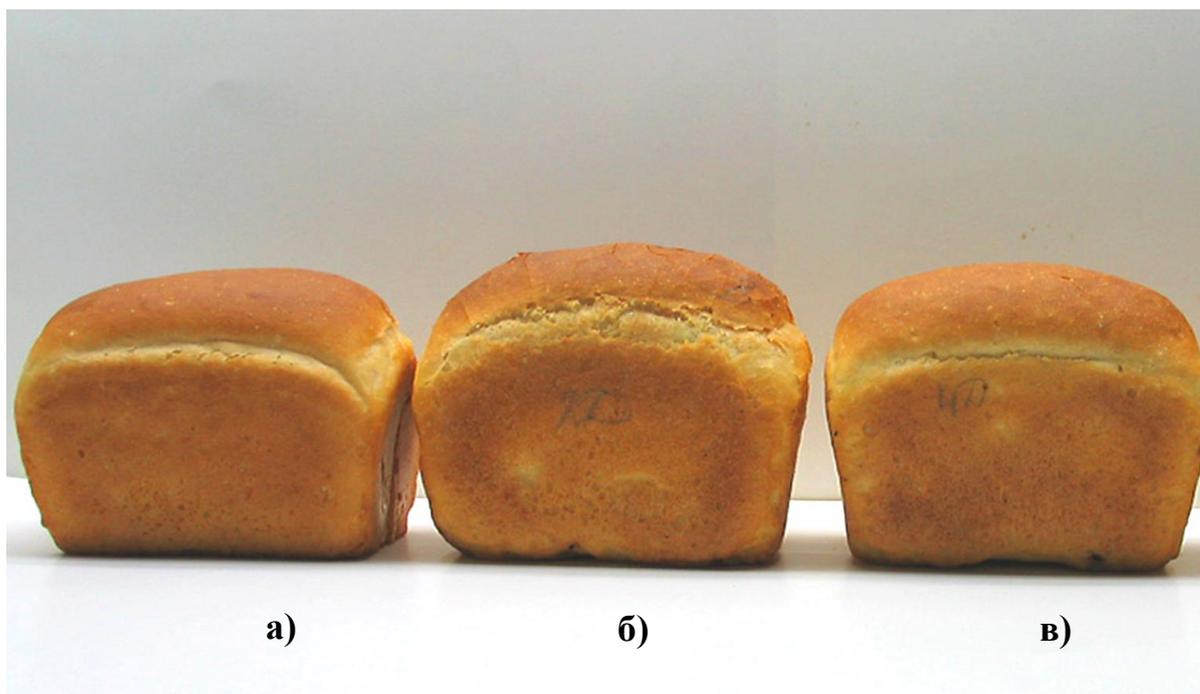


Рисунок 5. Форма и объёмный выход хлеба: а) сорт Безостая 1; б) линия СМБ/29; в) линия МБ/26.

3.2.1. Оценка цитологической стабильности интрогрессивных линий

Одной из основных причин, значительно влияющих на ограничение практического применения интрогрессивных линий пшеницы, является их цитологическая нестабильность, которая может привести к быстрой потере чужеродного генетического материала. Цитологическая стабильность подразумевает наличие у линий числа хромосом ($2n=42$), характерного для мягкой пшеницы, а также бивалентную конфигурацию хромосом. Для анализа числа хромосом в метафазе I митоза, было отобрано по 10 линий из каждой комбинации скрещивания. Установлено, что все линии являются 42-хромосомными.

Для определения цитологической стабильности изучали конъюгацию хромосом в метафазе I мейоза материнских клетках пыльцы у 54 наиболее интересных по своим морфо-биологическим признакам линий. Выявлено, что за исключением МК/27, у всех линий

количество клеток с бивалентной конфигурацией хромосом (21^{II}) превышало 90%. Таким образом, они являются цитологически стабильными.

3.2.2. Определение формы передачи генетического материала от *T. miguschovae*, Авродес, RS1 и RS7

Разнообразие полученных линий по устойчивости к болезням, продуктивности и технологическим качествам зерна может свидетельствовать о наличии интрогрессий от дикорастущих видов. При этом, важной задачей при работе с интрогрессивными линиями является определение формы передачи генетического материала и идентификация межхромосомных перестроек. Это позволяет отслеживать чужеродный хроматин в линиях-производных от конкретной синтетической формы, а также контролировать его количество, которое помимо необходимых в селекции генов может нести «генетический мусор», объём которого необходимо уменьшать.

Для определения формы передачи генетического материала от *T. miguschovae*, Авродес, RS1 и RS7, 53 цитологически стабильные линии были скрещены с сортом Краснодарская 99 с целью изучения мейоза у гибридов F_1 . Предполагалось, что если генетический материал синтетических форм представлен в виде целой хромосомы, то, как правило, ассоциация хромосом будет представлена в виде бивалентов и унивалентов ($20^{II} + 2^D$). Если же он представлен в виде транслокации, то в M_I мейоза можно будет наблюдать биваленты и мультиваленты. На основании полученных результатов, у 30 линий обнаружены транслокации, 17 линий несут одновременно транслокации и замещение хромосом. У линий GS/14, GS/16 и GS/19 интрогрессии происходят посредством замещения хромосом, а у AK/34, SU/8 и SU/13 за счёт рекомбинаций.

3.2.3. Изучение интрогрессивных линий методом дифференциального окрашивания хромосом (C-banding)

Цитогенетические маркеры являются эффективным методом анализа межхромосомных перестроек и обнаружения чужеродного генетического материала. Цитогенетические подходы широко использовались для картирования хромосом и/или переноса генов устойчивости от видов, родственных трибе *Triticeae*. Метод C-окраски (C - бендинга) использовался для оценки эволюционных взаимоотношений, идентификации чужеродных хромосом в интрогрессивных линиях пшеницы и амфидиплоидах (Gill et al., 1991, Babaeva et al., 2007, 2015).

С применением метода C-окраски установлено, что интрогрессии от *T. miguschovae* затронули хромосомы геномов А, В и D мягкой пшеницы (табл. 8).

Таблица 8. Результаты анализа интрогрессивных линий с генетическим материалом *T. miguschovae* методом дифференциального окрашивания хромосом

Линия	Характер перестроек	
	Транслокация	Замещение
МБ/1	T5BS.5BL-5GL; T6BS.6BL-6GL	1D(1D ^t); 6D(6D ^t)
МБ/3	T5BS.5BL-5GL; T6BS.6BL-6GL	1D(1D ^t); 6D(6D ^t)
МБ/26	T5BS.5BL-5GL; T6BS.6BL-6GL;	1D(1D ^t); 6D(6D ^t)
МБ/28	T5BS.5BL-5GL; T6BS.6BL-6GL	2B(2G); 1D(1D ^t); 6D(6D ^t)
МБ/29	T 5A ^t S.5AL-5A ^t L; T5BS.5BL-5GL	1D(1D ^t)
МК/35	T1BL.1RS; T5BS.5BL-5GL; T6BS.6BL-6GL; T2D; T5D	2B(2G)
МК/36	T1BL.1RS; T5BS.5BL-5GL; T6BS.6BL-6GL;	1D(1D ^t) 5D(5D ^t)
МК/37	T5BS.5BL-5GL; T6BS.6BL-6GL	4D(4D ^t)
МК/43	T1BL.1RS	2A-2A ^{T. mig.}

Это свидетельствует о значительном генетическом разнообразии линий полученных с участием данной синтетической формы. Хромосомные перестройки по геному А обнаружены у линии МБ/29 в форме транслокации 5A^tS.5AL-5A^tL и МК/43 - в виде замещения (2A-2A^{T. mig.}). У большинства линий выявлена транслокация 5BS.5BL-5GL, которая часто встречается при использовании в качестве источника устойчивости к болезням пшеницы вида *T. timopheevii*, или амфидиплоидов с его участием (Салина и др., 2008; Бадаева и др., 2010). За исключением МБ/29, МК/39, МК/40, МК/41 и МК/44 все линии с 5BS.5BL-5GL несут транслокацию T6BS.6BL-6GL. Транслокация 1BL.1RS от ржи (*S. sevale*), переданная от сорта Кавказ, выявлена у большинства линий, за исключением МК/37. В линиях МБ/28 и МК/35 идентифицировано замещение по 2В хромосоме. Замещение 1D хромосомы мягкой пшеницы на соответствующую от *Ae. tauschii* определено у линий МБ/29, МК/36, а 4D - у линии МК/37. Две замещенные хромосомы 1D(1D^t), 6D(6D^t), выявлены в линиях МБ/1, МБ/3, МБ/26 и МБ/28. Следует отметить, что замещения 4D(4D^t), 5D(5D^t) и 6D(6D^t) идентифицированы впервые.

В линиях, полученных на основе Авродес, интрогрессии от *Ae. speltooides* затронули в основном хромосомы генома D, при этом большинство из них, за исключением АК/35, одновременно имели межхромосомные перестройки на хромосомах 2D и 5D. Выявлены ранее не известные интрогрессии от *Ae. speltooides* - транслокации T2A, T1D, T2D, T5D и замещение хромосом 4D(4S), 5D(5S), 7D(7S).

У линий с генетическим материалом форм RS1 и RS7 получены следующие результаты: транслокация 5BS.5BL-5GL обнаружена у линий GS/19, GS/34, SU/9; T2BL.2BS-2GL - у линии GS/29; T7A - у линии SU/19; T2D, T5D - у линии SU/20. Линия GS/34 также имеет транслокации на первой, второй и пятой хромосомах генома D. Замещения хромосом у

большинства линий происходили в геноме D. Исключением служила линия GS/29, у которой 5В хромосома пшеницы замещена на 5G от *T. miguschovae* (рис 6).

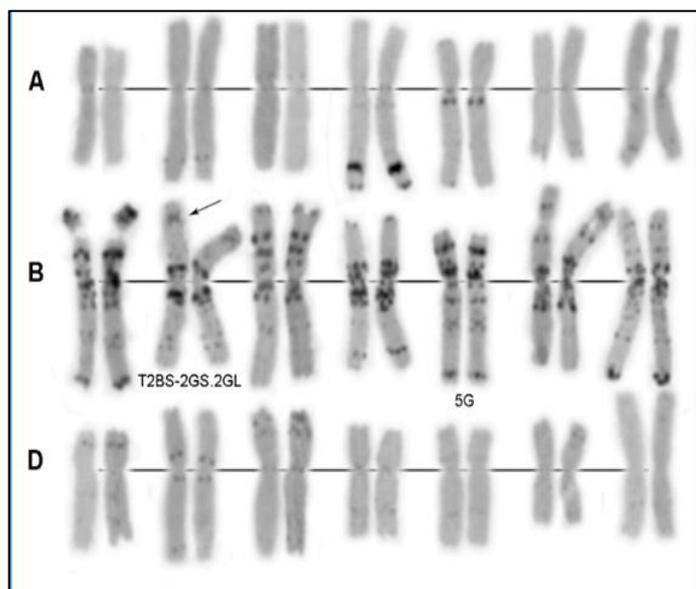


Рисунок 6. С-окрашенные кариотип линии GS/29 с генетическим материалом *T. miguschovae*

3.2.4. Генотипирование интрогрессивных линий мягкой пшеницы методом флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH)

Выявлять чужеродный хроматин, а также изучать особенности его сохранения и наследования, позволяет такой метод анализа, как флуоресцентная *in situ* гибридизация (FISH) (Raina, Rani, 2001; Markova, Vyskot, 2009). В результате генотипирования 31 линии мягкой пшеницы с применением зондов pSc119.2, pAs1 и Spelt1, различные хромосомные перестройки с участием чужеродных хромосом были выявлены в 29-ти из них.

Интрогрессии генетического материала, ведущие свое происхождение от генома G *T. militinae* и генома D^t *Ae. tauschii*, в основном затронули хромосомы родственных В и D геномов мягкой пшеницы. Так, у линий МБ/26, МК/17, МК/35 выявлено замещение хромосомы мягкой пшеницы 2В на 2G от *T. militinae*. В дополнении к этому, линия МК/35 несет транслокацию T5D^tS.5DL от *Ae. tauschii*. Замещение по 5D хромосоме выявлено у линии МК/36. У большинства линий обнаружена транслокация 1BL.1RS от ржи. Передача чужеродного генетического материала в линиях, полученных на основе Авродес, происходит в форме транслокаций, и также, как и в случае с *T. miguschovae*, затрагивает хромосомы геномов В и D мягкой пшеницы. Транслокация T5BS.5BL-5SL выявлена в линиях АА/19, АА/21 и АБ/11, а T2DS.2DL-2SL – в АА/21 и АБ/11. У линии АК/35 обнаружена транслокация на 6В хромосоме.

В работу по определению чужеродных интрогрессий были включены две линии, полученные с применением формы RS1. Генетического материала от Авродес в них не

выявлено. Транслокации от *T. miguschovae* T2BS.2GL, T5BS.5GL идентифицированы у линии GS/29, а T2DS.2DL-2SL, T5D¹S.5DL у линии GS/33.

Межромосомные перестройки выявлены у всех линий, полученных на основе синтетической формы RS7, за исключением SU/8 и SU/12. Установлено, что чужеродный материал у них представлен как в форме транслокаций, так и в виде замещенных хромосом. Транслокации от *Ae. speltoides* идентифицированы на хромосомах 1D, 2D, 3D, 5D, 7D, 4B, 5B. Выявлены линии SU/10 и SU/14 с замещением 1B(1S). Отобраны линии, у которых обнаружен генетический материал от 2-х дикорастущих видов. Так, у линии SU/9 определены транслокации на коротких плечах хромосом 5B, 1D, 2D и замещение по хромосоме 4D от *Ae. speltoides*. Кроме того, у этой линии выявлена транслокация в коротком плече хромосомы 7D от *Ae. umbellulata*. Линия SU/14 имеет транслокации на длинном плече хромосомы 2D от *Ae. umbellulata* и на 5B, 7B и 7D хромосомах от *Ae. speltoides* (рис. 7). Следует отметить, что транслокация T1DS.1DL-1SL и хромосомное замещение 4D(4S) от *Ae. speltoides*, а также транслокации T2DS.2DL-2UL, T7DL.7DS-7U от *Ae. umbellulata* получены впервые.

Таким образом, передача генетического материала от используемых синтетических форм происходит посредством отдельных транслокаций и их комбинацией с замещением хромосом. При этом интрогрессии затронули в основном хромосомы геномов В и D. Полученные результаты вполне ожидаемы, так как геномы G от *T. miguschovae* и S от Авродес родственны геному В мягкой пшеницы, а в синтетических формах Авродес, Авролата, RS1 и RS7 геном D мягкой пшеницы замещен на соответствующий от дикорастущего вида. Замещения и транслокации идентифицированы впервые, могут нести новые гены, контролируемые ценные для селекции признаки, и в том числе, что очень важно, новые гены устойчивости к болезням пшеницы.

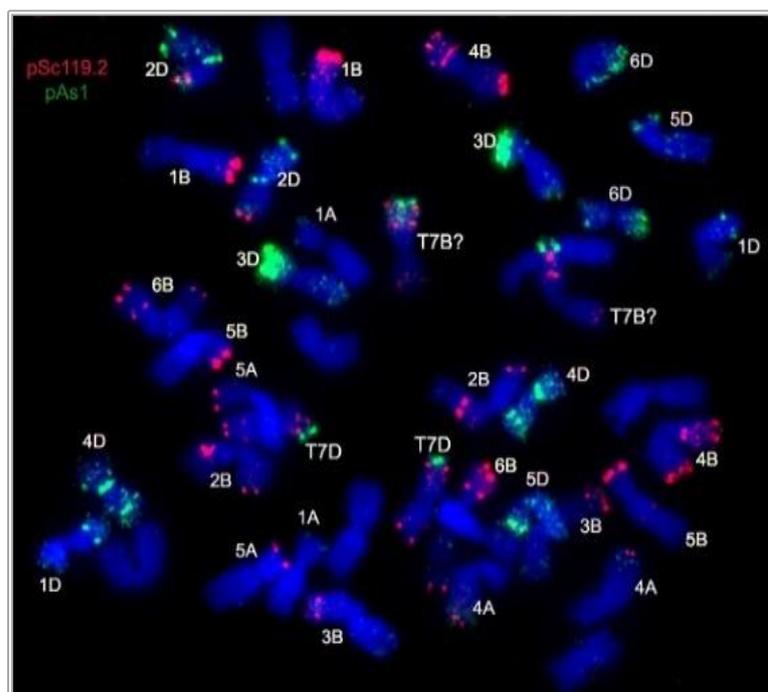


Рисунок 7. Гибридизация *in situ* с зондами pAs1 (зеленый) и pSc119.2 (красный) на метафазных хромосомах линии SU/14.

3.3. Применение молекулярных маркеров для изучения аллельного разнообразия интрогрессивных линий по генам хозяйственно-ценных признаков

За последние десятилетия было разработано множество функциональных ДНК-маркеров для генотипирования аллельных вариаций, контролирующих ценные признаки мягкой пшеницы. Некоторые из них, разработанные из последовательностей генов или чужеродных фрагментов, высоко диагностируются на различном генетическом фоне. Тем самым, они могут способствовать в выборе перспективного селекционного материала и оптимальных родительских пар для передачи различных ценных генов в новые сорта и, таким образом, могут повысить эффективность селекции мягкой пшеницы.

3.3.1. Идентификация генов устойчивости к листовой ржавчине

Исходя из родословных новых интрогрессивных линий, предположительно, они могут содержать известные гены устойчивости к листовой ржавчине *Lr9* от *Ae. umbellulata*, *Lr28*, *Lr35*, *Lr36*, *Lr47*, *Lr51* и *Lr66* от *Ae. speltoides*, *Lr21*, *Lr22a*, *Lr32*, *Lr39*, *Lr42* от *Ae. tauschii*, *Lr50* от *T. timopheevi*. В связи с этим, с помощью ПЦР проводили идентификацию ДНК-маркеров, сцепленных с указанными выше генами. Предварительно анализировались синтетические

формы Авролата, Авродес и *T. miguschovae*. Наличие молекулярного маркера J13, сцепленного с геном *Lr9*, выявлено у синтетической формы Авролата (рис. 8) (Давоян, 2012).

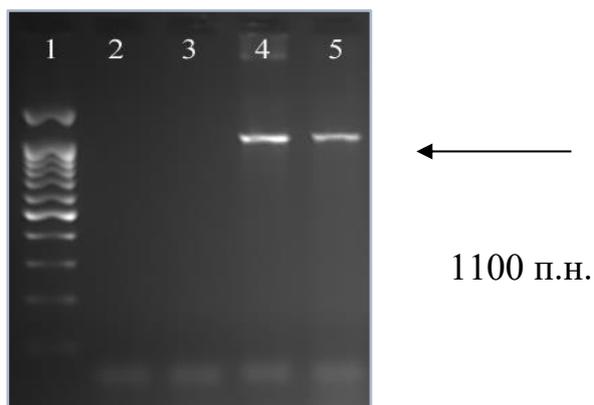


Рисунок 8. Электрофореграмма продуктов амплификации с использованием праймеров *FJ13/1* и *RJ13/2* к диагностическому маркеру, сцепленному с геном *Lr9* 1 – маркер длины 2 – Аврора, 3 – Безостая 1, 4 – ТсLr9, 5- Авролата.

В синтетической форме Авродес идентифицированы маркеры, сцепленные с генами устойчивости к листовой ржавчине *Lr35(Sr39)*, *Lr28* и *Lr51*(Давоян, 2012). В то же время присутствие маркеров PS10 и 16-S13, сцепленных с генами *Lr47* и *Lr66* соответственно, в Авродес не установлено. В синтетической форме *T. miguschovae* выявлен маркер *GDM-35*, сцепленный с геном *Lr39*. Присутствие маркеров Lr21F/R, специфичного для гена *Lr21*, а также BARC135, сцепленного с геном *Lr32*, не выявлено (Давоян, 2018). Таким образом, линии оценивались на присутствие маркеров, обнаруженных в синтетических формах. Дополнительно проводилась идентификация генов *Lr10*, *Lr26*, *Lr34*, которые могли быть переданы от сортов реципиентов Краснодарская 99, Кавказ и Безостая1 соответственно (Давоян, 2014; Давоян, 2018). В результате анализа выявлено, что в основном в линиях присутствуют утратившие эффективность гены, переданные от сортов реципиентов. Маркеры, сцепленные с *Lr10*, *Lr26*, *Lr34*, обнаружены у 57, 163 и 130 линий соответственно (рис. 9).

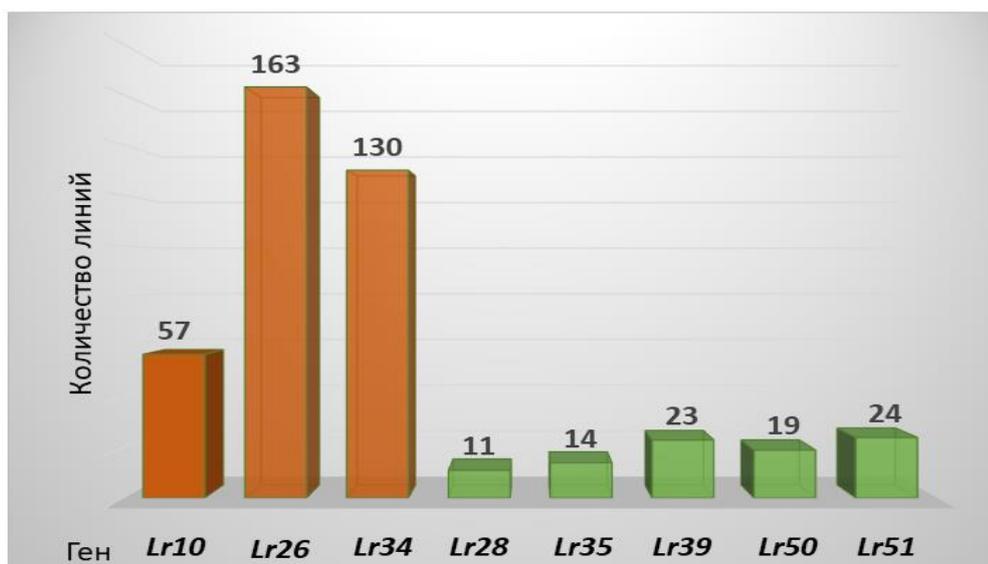


Рисунок 9. Количество линий мягкой пшеницы с выявленными маркерами, сцепленными с генами устойчивости к листовой ржавчине.

Присутствие в линиях комбинации SM маркера J13, сцепленного с геном *Lr9*, не установлено. ДНК-маркеры, сцепленные с эффективными на территории Краснодарского края генами *Lr28*, *Lr35*, *Lr39*, *Lr50* и *Lr51*, обнаружены у 11, 14, 23, 19 и 24 линий соответственно.

В ходе анализа отобраны линии с двумя, тремя и более генами устойчивости к листовой ржавчине. Выделены линии SM/9, в которой идентифицировано наличие генов устойчивости *Lr28* от *Ae. speltoides* и *Lr39* от *Ae. tauschii*, а также GS/2 с генами *Lr51* от *Ae. speltoides* и *Lr50* от *T. timopheevi*. Отобрана интересная для селекции на устойчивость линия АК/8 с пирамидой из генов *Lr10+Lr26+Lr28+Lr35+Lr51*. По результатам фитопатологической оценки, из 306 устойчивых к листовой ржавчине линий у 73 не были выявлены ДНК-маркеры, сцепленные с анализируемыми генами, а у 182 линий присутствовали маркеры, сцепленные с утратившими эффективность генами *Lr10*, *Lr26*, *Lr34*. Предположительно, устойчивость к листовой ржавчине у них может контролироваться другим геном(ми), отличным(ми) от анализируемых.

3.3.2. Определение аллельных вариантов генов короткостебельности (*Rht*)

Высота растений у мягкой пшеницы связана с наличием генов короткостебельности или карликовости *Rht*, которые понижают высоту и обуславливают различный клеточный ответ на эндогенный растительный гормон гиббереллин. Направленное использование в селекции генов *Rht* повышает потенциал урожайности и является одной из основных стратегий выращивания современных высокопродуктивных сортов мягкой пшеницы (Gale, Youssefian, 1985).

В результате изучения аллельного состояния генов короткостебельности, выявлены линии, несущие как единичные аллели *Rht-B1b*, *Rht-B1e*, *Rht-D1b* и *Rht-8c*, так и их сочетание. Установлено, что гены *Rht* могли быть переданы в линии как от сортов реципиентов, так и от

синтетических форм (Давоян, 2017). Мутантный аллель *Rht-B1b* гена *Rht1* выявлен в линиях МК/30, СМК/25, СМК/36, АА/35, GS/33, SU/4 и *T. migushovae*. Аллель *Rht-B1e* гена *Rht1* обнаружен в линиях СМБ/12, СМБ/29, СМБ/49, СМК/4, АК/34, GS/19, SM/2, *T. migushovae*. Мутантный аллель *Rht-D1b* гена *Rht2* идентифицирован в линиях МБ/30, МК/14, СМБ/46, СМК/8, АК/19, АК/28, АК/31, КАБ/9, КАБ/11; синтетических формах Авродес, RS1, RS6, RS7. Kozun с соавторами (1998) установили тесную связь (0,6сМ) между аллелем короткостебельности *Rht8c* и аллелем 192 п.н. микросателлитного локуса *Xgwm261*, расположенного на хромосоме 2DS. Данный аллель выявлен в линиях МБ/30, МК/14, СМК/25, СМБ/12, СМБ/29, СМБ/46, СМБ/49, СМК/8, СМК/12, СМК/36, АК/31, GS/1, GS/19. Отобраны линии МБ/30, МК/14, СМБ/46, СМК/8, АК/31, сочетающие аллели *Rht-D1b* и *Rht8c*, линии СМБ/12, СМБ/29, СМБ/49, GS/19 с комбинацией *Rht-B1e* и *Rht8c*, а также СМК/25, СМК/36 с аллелями *Rht-B1b* и *Rht8c*.

3.3.3. Изучение аллельных вариантов генов, кодирующих синтез амилозы в крахмале (*Wx*)

Полиморфизм аллельных вариантов *Wx*-генов изучен для мягкой и твёрдой пшеницы (*T. durum*) (Rodri'gez-Quijano et al., 1998). В результате стало возможным методами молекулярного маркирования идентифицировать различные аллели *Wx*-генов, в том числе нуль-аллели (Nakamura et al., 1995; Kiribuchi-Otobe et al., 1997). Каждый неактивный нуль-аллель вызывает снижение содержания амилозы в крахмале до определенного уровня и меняет соотношение амилоза/амилопектин в зерне пшеницы, что положительно сказывается на её технологических свойствах. Предположительно, интрогрессивные линии могут нести как известные, так и новые аллели *Wx*-генов. С целью их изучения проведена ПЦР для синтетических форм Авродес, *T. migushovae*, RS1, RS6, RS7 и линий, полученных на их основе (Davoyan et al., 2019).

Для определения аллельного состояния гена *Wx-A1* применяли кодоминантный маркер AFC/AR2, созданный Nakamura et al. (2002). У генотипов, имеющих аллели дикого типа *Wx-A1a*, наблюдается амплификация двух фрагментов размерами 410 и 389 п.н., а у несущих нуль-аллель *Wx-A1b* 410 и 370 п.н. В результате анализа у большинства исследуемых образцов и Авродес был выявлен аллель дикого типа *Wx-A1a*. У *T. miguschovae* и линии GS/24 амплифицировался только один бэнд 410 п.н. в то время как у АК/19 и GS/1 таковой отсутствовал (рис. 10).

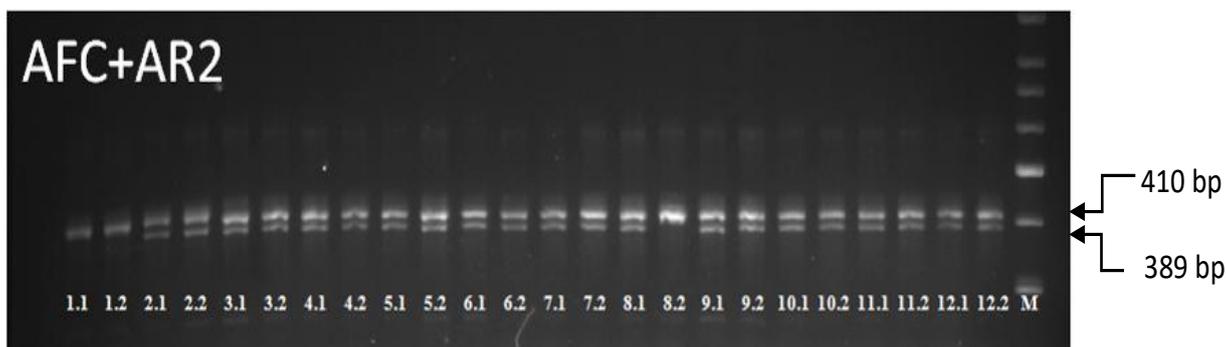


Рисунок 10. Электрофореграмма продуктов ПЦР с праймерами AFC и AR2: 1 – *T. miguschovae*; 2 – Авродес; 3 – МБ/1; 4 – СМБ/46; 5 – GS/32; 6 – GS/33; 7 – СМБ/48; 8 – GS/24; 9 – АБ/18; 10 – АА/21; 11 – МК/30; 12 – SU/14; М – маркер длины фрагментов ДНК.

McLauchlan с соавт. (2001) разработали систему молекулярного маркирования для гена *Wx-B1*. У образцов с аллелем дикого типа *Wx-B1a* амплифицируются три фрагмента ДНК размером 299, 255 и 227 п.н., а у форм с нуль-аллелем *Wx-B1b* фрагмент 227 п.н. отсутствует (рис. 11). С применением маркера 4F/4R у большинства линий выявлен аллель *Wx-B1a*. У *T. miguschovae* размер фрагментов амплификации 299 и 255 п.н. совпадал с таковым у мягкой пшеницы, однако фрагмент амплифицируемый с генома В (227 п.н.), отличался по размеру. У Авродес, RS1, RS6, RS7 и линий АК/19, АК/28, GS/1 отсутствовала амплификации с D-генома (299 п.н.).

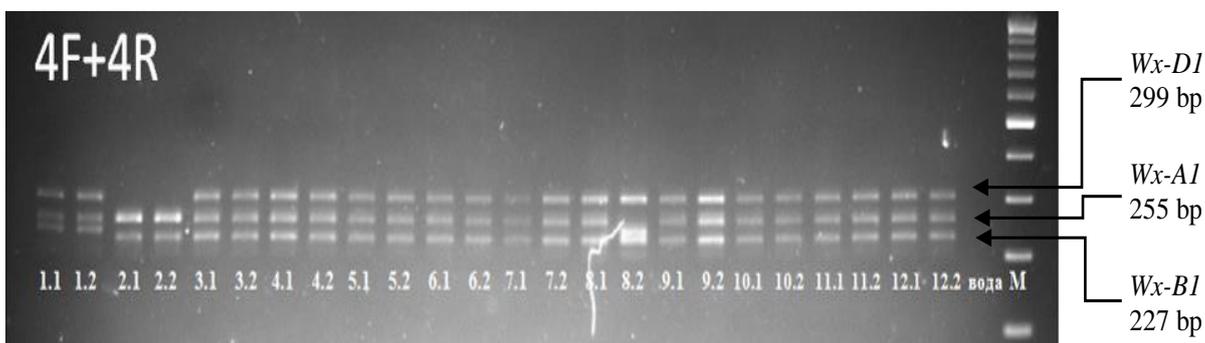


Рисунок 11. Электрофореграмма продуктов ПЦР с праймерами 4F и 4R: 1 – *T. miguschovae*; 2 – Авродес; 3 – МБ.1; 4 – СМБ/46; 5 – GS/32; 6 – GS/33; 7 – СМБ/48; 8 – GS/24; 9 – АБ/18; 10 – АА/21; 11 – МК/30; 12 – SU/14.

Shariflou с соавт. (2001) разработали праймеры *WxD1-2-F/R*, позволяющие идентифицировать аллели гена *Wx-D1*. При работе с ними у *T. miguschovae* и большинства линий выявлен фрагмент амплификации, характерный для присутствия аллеля дикого типа *Wx-D1a*. У Авродес, RS1, RS6, RS7 и у линий АК/19, АК/28 амплификация с D-генома отсутствовала.

Таким образом, ДНК-маркеры, разработанные для выявления нуль-аллелей *Wx*-генов, также могут быть использованы для работы с частью аллелей генов *Wx* у образцов *T. miguschovae*, Авродес и их производных, в том числе в маркер-опосредованной селекции. Предположительно, *T. miguschovae*, Авродес, RS1, RS6 и RS7, линии АК/19, АК/28, GS/1 могут

нести чужеродные аллели, отличные от таковых у мягкой пшеницы и могут иметь другое фенотипическое проявление на формирование крахмала.

3.3.4. Изучение аллельного разнообразия генов *Vrn-1* и *Ppd-1*

Одной из причин различия линий по длительности вегетационного периода и дате начала колошения являются гены *Vrn-1*, определяющие реакцию пшеницы на яровизацию и локализованные на хромосомах 5A, 5B и 5D, соответственно (Law et al., 1978; Galiba et al., 1995; Dubcovsky et al., 1998). Озимая пшеница, как правило, несёт рецессивные аллели в каждом локусе, в то время как яровая хотя бы в одном из них имеет доминантный аллель. Для определения аллелей генов *Vrn-1* и понимания их роли в адаптации пшеницы в различных географических регионах разработаны аллель-специфичные ДНК-маркеры (Yan et al. 2004; Fu et al. 2005).

В результате использования пары праймеров VRN1AF/R к маркеру, сцепленному с геном *Vrn-A1*, у всех образцов выявлен диагностический фрагмент амплификации 484 п.н., в то время как у *T. miguschovae* таковой составил около 450 п.н. (рис.12). Предположительно, *T. miguschovae* может нести неизвестный аллель гена *Vrn-A1*. У синтетической формы Авродес и линий СМБ/29, АБ/11, АК/31, АК/32, КАБ/11, SM/2, SU/4, SU/14 идентифицирован фрагмент амплификации около 120 п.н., что может быть связано с интрогрессией чужеродного хроматина. Изучение родительских форм (реципиентных сортов и синтетических форм Авродес, *T. miguschovae*) с применением маркеров для ярового и озимого типа показало, что за исключением последней все они характеризуются как озимые формы.

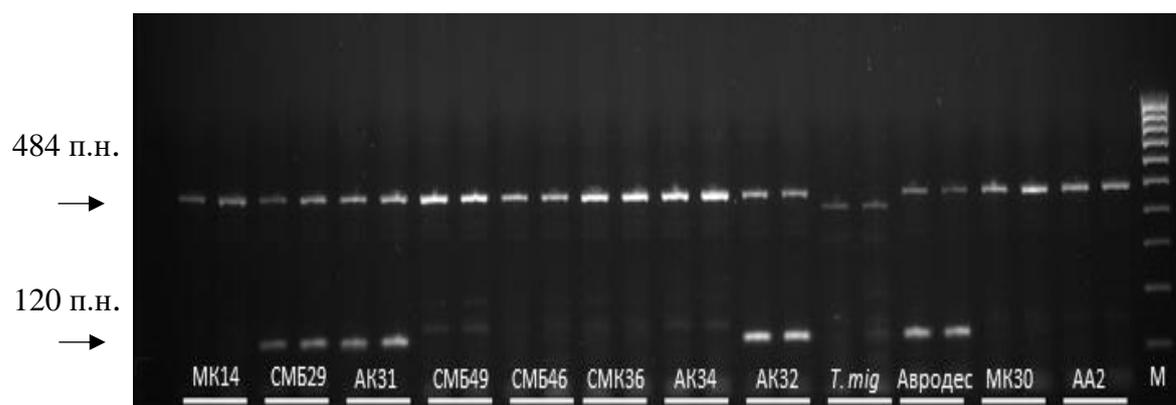


Рисунок 12. Электрофореграмма продуктов ПЦР с парой праймеров VRN1AF+VRN1R, сцепленных с геном *Vrn-A1*. М – маркер размеров DNA 100 bp.

Для идентификации аллелей гена *Vrn-B1* использовали праймеры, опубликованные D. Fu с соав. (2005). Установлено, что большинство образцов несут аллель *Vrn-B1b*, характерный для

озимого типа развития. Исключение составили *T. miguschovae*, Авродес и линии СМБ/12, СМК/4, АА/19, GS/1, в которых не были выявлены диагностические для данного гена продукты амплификации. Отсутствие таковых можно объяснить наличием неизвестного аллеля гена *Vrn-B1*, нетипичного для мягкой пшеницы. За исключением Авродес, RS7, МБ/26, СМБ/29, АК/19, АК/28, АБ/11 и SU/14, у всех образцов выявлен целевой фрагмент 997 п.н., соответствующий аллелю *Vrn-D1b*, который характеризуется озимым типом развития.

Чувствительность к фотопериоду (продолжительности светового периода суток) у пшеницы обусловлена аллельным составом гомеологической серии генов *PPD1* (Snape et al. 2001). Доминантный аллель *Ppd-D1a* является наименее чувствительным к фотопериоду и ассоциирован с наиболее ранним цветением на коротком дне, за ним следуют нечувствительные к фотопериоду аллели генов *Ppd-A1* и *Ppd-B1* (Bentley et al. 2011). Beales с соавторами (2007). разработали молекулярные маркеры для того, чтобы дифференцировать нечувствительный к фотопериоду аллель *Ppd-D1a* от чувствительного *Ppd-D1b*. При работе с ними, у линий МБ/30, МК/30, МК/14, СМБ/12, СМБ/46, СМБ/48, СМК/36, АА/2, АА/19, АА/35, АБ/11, GS/1, GS/19, GS/32, GS/33 и SU/4 выявлен доминантный аллель гена *Ppd-D1a*, который, по данным Worland с соавторами (1996), снижает высоту на 10 см и ускоряет время цветения растений, уменьшая их жизненный цикл, в среднем, на неделю. У синтетической формы *T. miguschovae*, а также линий МБ/26, СМК/26, АА/36, АБ/18, GS/24, обнаружен рецессивный аллель *Ppd-D1b*.

В формах RS1, RS6, RS7 и линиях АК/19, АК/28 выявлен нетипичный для мягкой пшеницы продукт амплификации размером около 150 п.н. У Авродес и линий МБ/31, МК/39, СМБ/29, СМК/4, СМК/8, АА/2, АА/6, АА/21, АБ/18, АК/32, КАБ/9, КАБ/11, SM/2, SU/14 амплификация отсутствовала. Это может быть, связано как с отсутствием 2D хромосомы в результате замещения, так и с присутствием хромосомы, гомеологичной хромосоме 2D мягкой пшеницы.

ГЛАВА IV. ПРИМЕНЕНИЕ MAS ДЛЯ СОЗДАНИЯ ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ С ЗАДАННЫМИ КАЧЕСТВАМИ

4.1. Использование MAS в селекции пшеницы на устойчивость к листовой ржавчине

Из литературных источников нами были подобраны известные эффективные для отбора ДНК-маркеры, сцепленные с генами устойчивости к листовой ржавчине: *Lr9*, *Lr10*, *Lr19*, *Lr24*, *Lr26*, *Lr34*, *Lr37*. Данные маркеры активно применяются в селекционной работе по

созданию генетически-разнообразного исходного материала и сортов с различной природой устойчивости к листовой ржавчине.

На начальном этапе было изучено 46 коммерческих сортов селекции НЦЗ с целью характеристики их генотипов по указанным выше генам (табл. 9).

Таблица 9. Анализ сортов мягкой пшеницы на присутствие генов устойчивости к листовой ржавчине *Lr9, Lr10, Lr19, Lr24, Lr26, Lr34, Lr37*

Гены устойчивости	Сорта мягкой пшеницы
<i>Lr10</i>	Батько, Гром, Нота, Краля, Краснодарская 99, Трио, Этнос, Юмпа
<i>Lr19</i>	Паллада, Яра
1BL.1RS (<i>Lr26</i>)	Баграт, Васса, Вершина, Иришка, Курень, Лауреат, Ольхон, Уруп, Фортуна
<i>Lr34</i>	Дмитрий, Есаул, Калым, Лига 1, Протон, Юнона, Кума, Юбилейная 100
<i>Lr37</i>	Морозко
<i>Lr10+Lr26</i>	Коллега, Антонина, Стан, Курс
<i>Lr10+Lr34</i>	Зимтра
<i>Lr26+Lr34</i>	Афина, Дока, Таня, Утриш
<i>Lr10+Lr26+Lr34</i>	Адель, Айвина, Вита, Юка

Высокоэффективные в большинстве регионов нашей страны гены *Lr9* и *Lr24* не идентифицированы. Эффективный на территории Краснодарского края ген *Lr19* обнаружен в сортах Паллада и Яра. Ген *Lr37* выявлен в высокоустойчивом сорте Морозко. У большинства сортов выявлены маркеры, сцепленные с утратившими эффективность генами *Lr10, Lr26, Lr34*.

4.1.1. Передача генов *Lr9, Lr19, Lr24* и *Lr37* в сорта мягкой пшеницы посредством маркер контролируемого беккрасса

На основании результатов, полученных при генотипировании сортов мягкой пшеницы в отделе селекции и семеноводства пшеницы и тритикале НЦЗ, была начата работа по передаче им эффективных в условиях Краснодарского края *Lr*-генов. В качестве доноров были использованы почти изогенные линии сорта Thatcher с генами *Lr9, Lr19, Lr24* и *Lr37*. Метод передачи генов устойчивости представлял собой вариант маркер-контролируемого беккрасса, при котором отбирались растения, наиболее приближенные к сорту реципиенту по фенотипу и обладающие целевым геном от сорта-донора (рис.13).

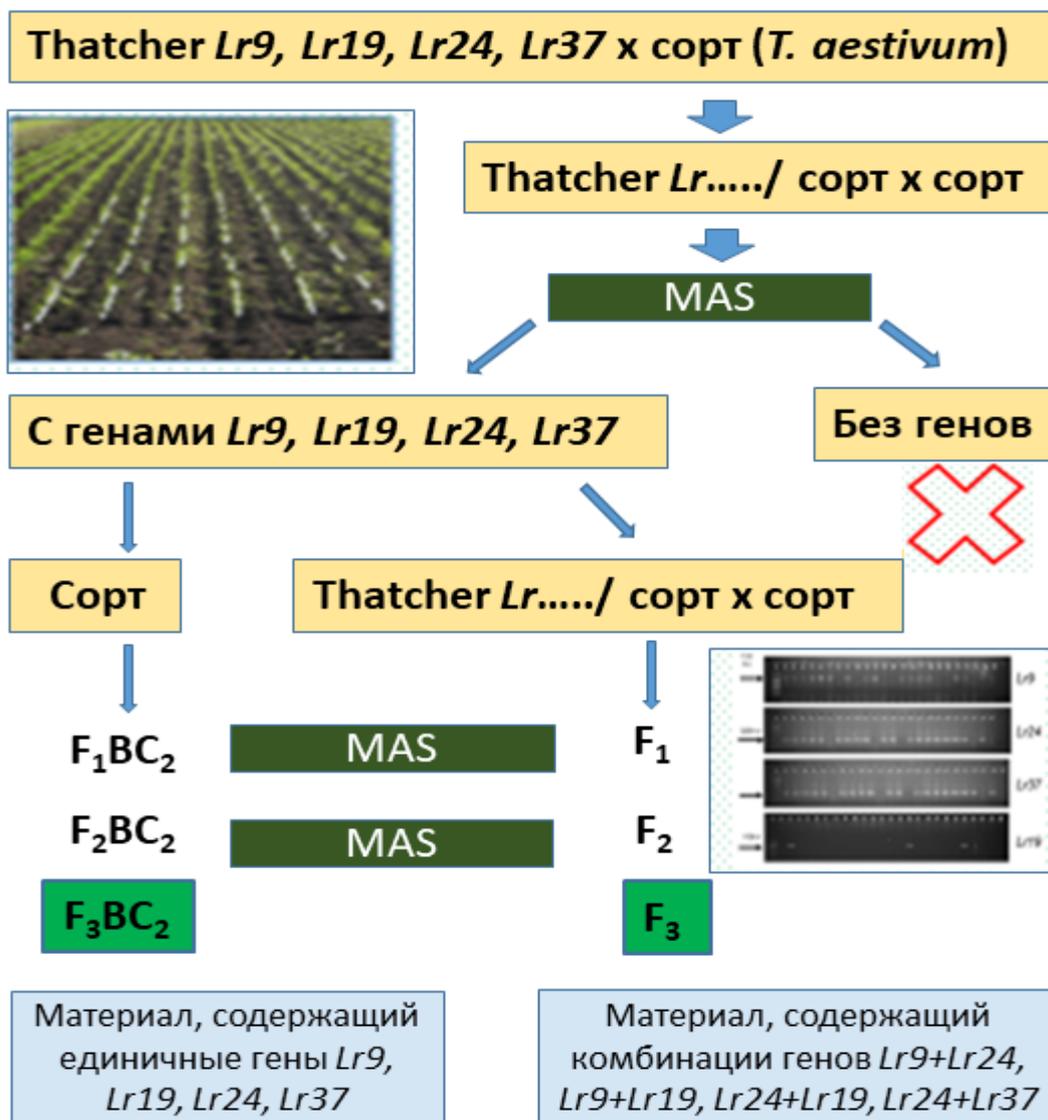


Рисунок 13. Передача в сорта мягкой пшеницы и пирамидирование генов устойчивости к листовой ржавчине посредством маркер-опосредованного беккросса (Беспалова и др., 2012).

После того, как были получены гибридные растения от первых скрещиваний, проводили беккроссы с целью увеличения адаптивного материала сорта-реципиента в гибридном потомстве. Далее, с помощью молекулярных маркеров, выявляли генотипы несущие целевые гены. Растения BC_2F_1 , отобранные маркерами, были использованы для проведения нескольких этапов самоопыления. На каждом из них, с помощью ПЦР, выявляли присутствие ДНК-маркеров, сцепленных с интрогрессируемыми генами.

Сегрегация отобранных маркеров, сцепленных с генами *Lr9*, *Lr19*, *Lr24*, *Lr37*, в поколении BC_2F_2 соответствовала теоретически ожидаемому соотношению 3:1 ($\chi^2 = 1,33$, $\chi^2 = 0,85$; $\chi^2 = 0,55$; $\chi^2 = 0,64$; соответственно, $P > 0,25$) (табл.10).

Таблица 10. Наследование маркерных генов *Lr9*, *Lr19*, *Lr24* и *Lr37* в потомстве BC₂F₂ растений мягкой пшеницы

Передаваемый ген	Число изученных линий, шт	Число линий с <i>Lr</i> -геном, шт	χ^2 (3:1)	P
<i>Lr9</i>	256	205	1,33	0,50-0,25
<i>Lr19</i>	311	221	0,85	0,75-0,50
<i>Lr24</i>	1005	743	0,55	0,50-0,25
<i>Lr37</i>	1168	841	0,64	0,50-0,25

В виду доминантного характера наследуемости отобранных маркеров, начиная с BC₂F₂ дополнительно проводилась оценка растений по устойчивости к листовой ржавчине. В BC₂F₃ было отобрано 1577 линии мягкой пшеницы, содержащих единичные *Lr*-гены, которые изучались в различных питомниках размножения. Начиная с этого этапа проводились полевые и лабораторные отборы растений.

С целью выявления форм с высоким потенциалом урожайности и качества зерна, устойчивых к болезням и несущим ценные хозяйственно-биологические признаки, проводилось испытание наиболее перспективных линий в КСИ. По результатам изучения выделены лучшие образцы. Линия М.51к21 с геном *Lr9* и линии М.43к8, М.55к4, М.76к8, М.77к13, М.77к9, М.78к13, М.83к26, М.111к4, М.113к1, М.114к2, М.167к13 с *Lr37*. Все линии характеризовались устойчивостью к листовой ржавчине и хорошими показателями содержания белка и клейковины, достоверно превышающим таковые у сорта Гром. Отобраны перспективные для селекции линии М.77к13, М.77к9, М.78к13, М.43к8, которые обладают устойчивостью к болезням, хорошей продуктивностью и качеством, и рекомендованы для дальнейшего изучения.

4.1.2. Пирамидирование генов устойчивости к листовой ржавчине

В процессе генотипирования, начиная с F₁, растения, у которых были выявлены ДНК-маркеры, сцепленные с искомыми *Lr*-генами, отбирали для проведения скрещиваний по объединению нескольких *Lr*-генов в одном генотипе. Для этого часть растений с единичными генами повторно скрещивали с TchatcerLr//Сорт, а затем выявляли генотипы, которые несли комбинации таковых. В F₂ были отобраны растения с сочетанием *Lr*-генов.

Комбинации генов *Lr9+Lr19*, *Lr9+Lr24*, *Lr9+Lr37* были выявлены в 58, 82 и 12 образцах соответственно. Семьдесят семь растений несли маркеры, сцепленные с генами *Lr19+Lr24*. Идентифицировано 41 растение с сочетанием диагностических маркеров, сцепленных с генами

Lr19+Lr37 и 222 образца, несущих маркеры, сцепленные с генами *Lr24+Lr37*. Для получения генотипов с сочетанием трёх генов *Lr*, часть отобранных растений с комбинациями 2-х генов скрещивали с TchatcerLr//Сорт и проводили несколько этапов самоопыления и маркерных отборов. По результатам генотипирования F₅ выявлено 10 линий с комбинацией генов *Lr9+Lr19*, 25 линий с сочетанием генов *Lr24+Lr37*, 7 линий с пирамидой из 3х генов *Lr9+Lr19+Lr37* и одна с *Lr9+Lr24+Lr37*. Эти линии были изучены в контрольном питомнике размножения. Характеристика наиболее перспективных из них по показателям урожайности, содержания белка и клейковины, представлена в таблице 11.

Таблица 11. Характеристика перспективных линий с комбинацией *Lr*-генов, по высоте растения, урожайности, содержанию белка и клейковины

Линия, сорт	Генотип, <i>Lr</i>	Урожайность, кг/4,5м ²	Содержание белка,%	Содержание клейковины,%
П.28Mc36	<i>Lr9+Lr19</i>	3,8	14,6	27,9
П.12Mc4	<i>Lr24+Lr37</i>	4,1	15,3	30,8
П.25Mc6	<i>Lr24+Lr37</i>	3,6	16,2	31,6
П.30Mc21	<i>Lr24+Lr37</i>	3,9	15,6	30,1
П.128Mc1	<i>Lr24+Lr37</i>	2,9	16,4	32,9
П.150Mc3	<i>Lr24+Lr37</i>	3,9	15,0	28,4
П.169Mc3	<i>Lr24+Lr37</i>	4,2	14,0	24,5
П.173Mc9	<i>Lr24+Lr37</i>	4,2	13,8	24,4
П.225Mc7	<i>Lr24+Lr37</i>	4,1	13,4	23,0
П.240Mc8	<i>Lr24+Lr37</i>	4,2	14,0	25,3
П.172Mc4	<i>Lr9+Lr24+Lr37</i>	4,3	13,5	23,9
Гром	<i>Lr10</i>	4,40	13,4	23,6
НСР ₀₅		0,4	0,6	2,3

Показатели урожайности с одной делянки (4,5м²) варьировали от минимального 2,9 кг у линии П.128Mc1 до максимального 4,3 кг П.172Mc4. Примечательно, что линия П.172Mc4, к тому же, единственная отобранная с пирамидой из трёх генов устойчивости. Показатели содержания белка и клейковины у линий П.28Mc36, П.12Mc4, П.25Mc6, П.30Mc21, П.128Mc1, П.150Mc3 достоверно выше таковых у сорта Гром. Выделены линии П.25Mc6 и П.128Mc1 с высоким содержанием белка и клейковины (свыше 16% и 31% соответственно). Все отобранные линии несли устойчивость к листовой ржавчине и мучнистой росе.

Таким образом, применяемые для исследования ДНК-маркеры позволяют с высокой точностью отбирать линии, содержащие гены устойчивости *Lr9*, *Lr19*, *Lr24* и *Lr37*, и тем самым могут эффективно использоваться в MAS. Полученные с помощью маркер опосредованного беккрасса линии с единичными и пирамидами *Lr*-генов, рекомендованы для использования в

селекционных программах в качестве ценного исходного материала при создании устойчивых к листовой ржавчине сортов мягкой пшеницы.

4.2. Передача нуль-аллелей *Wx*- генов в сорта мягкой пшеницы селекции НЦЗ

Одним из важных направлений нашей работы является передача нуль-аллелей генов *Wx-A1*, *Wx-B1*, *Wx-D1* в коммерческие сорта мягкой пшеницы. В качестве доноров нуль-аллелей использовали мутантные формы PI619381, PI619384, PI619376, PI619386, PI619377, PI619378, созданные в USDA-ARS, США. В качестве реципиентов применяли сорта Старшина, Васса, Утриш, Сила, Есаул, Кума селекции НЦЗ им. П.П. Лукьяненко и сорт Коротышка селекции Белгородского НИИ, носителя функционального аллеля *Wx-B1e* (Дивашук и др., 2011). В результате применения маркер-контролируемого беккросса получены линии F₆ мягкой пшеницы, которые были изучены по аллельному состоянию генов *Wx-A1*, *Wx-B1*, *Wx-D1*. Число анализируемых линий по каждой комбинации скрещивания, а также количество линий с выявленными аллелями, приведено в таблице 12.

Таблица 12. Количество линий с выявленными нуль-аллелями *Wx-A1b*, *Wx-B1b*, *Wx-D1b* и аллелем *Wx-B1e*, шт.

Комбинация скрещивания	Количество линий	Количество линий с выявленными аллелями			
		<i>Wx-A1b</i>	<i>Wx-B1b</i>	<i>Wx-B1e</i>	<i>Wx-D1b</i>
К.54	26	26	-	22	17
К.55	45	27	-	20	14
К.56	27	11	1	-	1
К.58	43	22	-	1	17
К.59	33				1
К.60	62	-	-	5	1
К.61	47	17	-	13	4
К.62	60	9	4		3
К.70	100	3	-	47	42
К.71	59	7	5	-	12
Всего		122	10	108	101

Нуль-аллель гена *Wx-A1* был выявлен у 122 линий во всех комбинациях скрещивания за исключением К.59 и К.60. Нуль-аллель *Wx-B1b* обнаружен в одной линии, полученной из комбинации скрещивания К. 56, четырех линиях комбинации К. 62 и пяти линиях комбинации К.71. Присутствие функционального аллеля *Wx-B1e*, отличного от *Wx-B1a*, идентифицировано в 108 линиях. В комбинациях К.56, К.62, К.71 этот аллель не обнаружен. Аллель *Wx-D1b* идентифицирован у 101 линии во всех комбинациях скрещивания. Наибольшее число линий с этим аллелем присутствовало в комбинации №70. Наличие трех нуль-аллелей (*Wx-A1b+Wx-B1b+Wx-D1b*), что соответствует полностью *Wx*-пшеницам, выявлено в линии КЛ.56-12, полученной от скрещивания мутантной формы PI 619376 с сортом Васса (комбинация К. 56).

Полная технологическая оценка дана нескольким перспективным линиям и стандартным сортам (табл. 13). Показатели содержания белка в линиях КЛ.88-17, КЛ.89-1 (с нуль-аллель *Wx-A1b*), и КЛ.92-28 (*Wx-A1b+Wx-D1b*) находились на уровне сорта Старшина и незначительно превышали сорт Таня. В то время, как по содержанию клейковины все линии имели значительно лучшие показатели.

Таблица 13. Характеристика образцов мягкой пшеницы по технологическим качествам зерна, (2019 г.)

Название образца	Аллель <i>Wx</i> -гена	Содержание белка %	Содержание клейковины%	Сила муки е.а.	Водопогл. способность %	Разжижение теста е.ф.	Валориметр. оценка	Объёмный выход хлеба см ³	Общая хлебопек. оценка, балл
КЛ.88-17	<i>Wx-A1b</i>	15,5	29,8	277	66,6	100	86	840	4,7
КЛ.89-1	<i>Wx-A1b</i>	15,5	30,3	279	63,9	105	72	950	4,7
КЛ.92-28	<i>Wx-A1b+Wx-D1b</i>	15,8	29,0	198	62,7	100	62	890	4,8
КЛ.92-32	<i>Wx-B1b</i>	15,1	28,0	299	64,7	85	78	870	4,9
КЛ.68-1	<i>Wx-B1b</i>	18,3	37,0	226	76,8	190	72	1000	3,5
Старшина	<i>Wx-A1b</i>	15,1	26,7	307	64,2	95	88	860	4,8
Таня	<i>Wx-A1a</i>	14,1	24,2	180	62,1	85	48	750	4,5

Самые высокие значения, получены для линии КЛ.68-1с нуль-аллелем *WxB1b* (белок-18,3%, клейковина-37%). По силе муки, за исключением КЛ.92-28, отобранные линии близки к «сильным» пшеницам. Линии с идентифицированными нуль-аллелями *Wx*-генов выделяются более высокой водопоглотительной способностью в сравнении с сортом Таня, и находятся на уровне и выше с сортом Старшина. Вероятно, оптимальное сочетание показателей разжижения и высокой валориметрической оценки, вносит вклад в формирование высокообъемного хлеба с высокой общей хлебопекарной оценкой, которая у КЛ.92-28, находилась на уровне, а в случае линии КЛ.92-32 превышала стандартный сорт Старшина.

ГЛАВА V. СОЗДАНИЕ НОВЫХ СОРТОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ДАНКО, КУЛИЧ, ВЫЗОВ

5.1. Характеристика новых сортов мягкой пшеницы

Методами экологической селекции в НЦЗ им. П.П. Лукьяненко созданы новые сорта яровой мягкой пшеницы Данко и Кулич, сорт мягкой пшеницы факультативного образа жизни (двуручка) Вызов.

Полученные сорта отличаются рядом хозяйственно-ценных характеристик, таких как высокая зерновая продуктивность, хорошие технологические качества, устойчивость к

болезням, засухоустойчивость и жаростойкость, устойчивость к полеганию, большой диапазон по продолжительности вегетации и включены в Государственное сортоиспытание.

Помимо перечисленных положительных для селекции качеств, у новых сортов выявлены ДНК-маркеры, сцепленные с генами, детерминирующими хозяйственно-ценные признаки (табл. 14). Так, устойчивый к листовой ржавчине сорт Кулич имеет защиту от данной болезни в виде комбинации генов *Lr10+Lr19*. Сорт Вызов несёт пирамиду генов устойчивости к листовой ржавчине *Lr10+Lr26+Lr37*, гены устойчивости к мучнистой росе (*Pm8*), стеблевой (*Sr31*) и жёлтой (*Yr9*) ржавчинам в составе пшенично-ржаной транслокации 1Bl.1RS, а также гены устойчивости к стеблевой (*Sr38*) и жёлтой (*Yr17*) ржавчинам, переданные с геном *Lr37* в составе транслокации от *Ae. ventricosa*.

Таблица 14. Результаты генотипирования сортов мягкой пшеницы на присутствие молекулярных маркеров, сцепленных с хозяйственно-ценными генами

Сорт	Кулич	Данко	Вызов
Маркер сцепленный, с генами			
Устойчивости к листовой ржавчине (<i>Lr</i>)	<i>Lr10+Lr19</i>	<i>Lr10</i>	<i>Lr10+Lr26+Lr37</i>
Устойчивости к стеблевой ржавчине (<i>Sr</i>)	<i>Sr25</i>		<i>Sr31, Sr38</i>
Устойчивости к мучнистой росе (<i>Pm</i>)			<i>Pm8</i>
Устойчивости к жёлтой ржавчине (<i>Yr</i>)			<i>Yr9, Yr17</i>
Редукции высоты растения (<i>Rht</i>)	<i>RhtB1b</i>	<i>RhtB1b</i>	<i>RhtB1e, Rht8c</i>
Чувствительности к яровизации (<i>PPD</i>)	<i>PpdD1b</i>	<i>PpdD1b</i>	<i>PpdD1a</i>
Чувствительности к длине дня (<i>VRN</i>)	<i>VrnA1a, VrnD1b</i>	<i>VrnA1b, VrnD1b</i>	<i>VrnA1b, VrnB1b</i>

В сортах Данко и Кулич выявлен мутантный аллель *Rht-B1b* (ген *Rht1*). У сорта Вызов идентифицирован аллель *Rht-B1e* (ген *Rht-11*), который оказывает более существенное влияние на снижение высоты растений в сравнении с аллелем *Rht-B1b* (Pearce, 2011). Это подтверждается полученными данными изучения высоты растений. Так в яровом посеве сорт Вызов проявляется как полужарлик и имеет высоту 70 -90 см., что на 10-20см ниже высоты у сортов Кулич и Данко. Дополнительно к гену *Rht-11* сорт Вызов несёт аллель 192 п.н. гена *Rht8*, который также оказывает влияние на данный признак. Сорта Кулич и Данко несут рецессивный аллель *Ppd-D1b* и проявляют чувствительность к длине дня. Доминантный аллель *Ppd-D1a* идентифицирован у сорта Вызов. Доминантный аллель *Vrn-A1a*, выявленный у Кулича, обеспечивает полную нечувствительность растения к яровизации.

Следует отметить, что новые сорта имеют широкий полиморфизм по чувствительности к длине дня и потребности в яровизации, что позволяет им адаптироваться в различных эколого-климатических зонах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты, полученные в настоящей работе, демонстрируют высокую эффективность создания и использования синтетических форм для решения фундаментальной задачи - расширения генетического разнообразия мягкой пшеницы за счет генофонда ее дикорастущих видов *T. militinae*, *Ae. tauschii*, *Ae. speltoides* и *Ae. umbellulata*.

Созданные интрогрессивные линии представляют собой ценный для селекции мягкой пшеницы исходный материал и могут быть использованы в качестве новых доноров устойчивости к болезням, повышенного содержания белка и клейковины, улучшенных технологических свойств зерна.

В ходе изучения интрогрессивных линий выявлена тенденция передачи от синтетических форм устойчивости одновременно к нескольким болезням. Отобраны линии устойчивые к двум, трём и четырём болезням (листовая, жёлтая ржавчины, мучнистая росса, септориоз). Большинство линий (89%) устойчивы к листовой ржавчине, при этом 34% проявляют высокую устойчивость с типом реакции (1-).

Большое разнообразие полученного нами материала позволяет отбирать перспективные линии не только с устойчивостью к комплексу болезней, повышенным содержанием белка и клейковины, но и обладающие высокой продуктивностью, хорошими технологическими свойствами и хлебопекарными качествами. Линии, сочетающие продуктивность, хорошие хлебопекарные качества с групповой устойчивостью к болезням, рекомендованы для изучения в конкурсном сортоиспытании

Цитологическими методами анализа установлено, что передача генетического материала от используемых синтетических форм, в основном, происходит в форме транслокаций и их комбинацией с замещением хромосом. Выявлены ранее не идентифицированные транслокации и замещения, которые могут нести новые гены, контролируемые ценные для селекции признаки, в том числе, что очень важно, новые гены устойчивости к болезням пшеницы.

Оценка интрогрессивных линий по наличию ДНК-маркеров, сцепленных с генами, детерминирующими ценные хозяйственно-биологические признаки, выявила в них значительное аллельное разнообразие. Отобраны линии, несущие ДНК-маркеры, сцепленные генами устойчивости к листовой ржавчине *Lr10*, *Lr26*, *Lr34*, *Lr35*, *Lr28*, *Lr51*, *LR39* и *Lr50*. Выявлены линии с мутантными аллелями генов короткостебельности *Rht-B1b*, *Rht-B1e*, *Rht-D1b* и *Rht-8c*. Аллели генов *Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Ppd-D1*, *Wx-A1* и *Wx-B1* в синтетических формах и у ряда линий отличаются от таковых у мягкой пшеницы и могут иметь другое фенотипическое проявление на формирование признака.

Интрогрессивные линии с новыми, ранее не известными транслокациями и замещением хромосом, а также линии с идентифицированными генами хозяйственно-важных признаков, могут служить основой для дальнейшей селекционной работы по передаче генетического материала от дикорастущих видов, а также стать модельными объектами в фундаментальных исследованиях, направленных на понимание механизмов интрогрессии чужеродного хроматина в геном мягкой пшеницы. Информация о наличии генов ценных признаков в сортах и линиях мягкой пшеницы является важной для подбора родительских форм и разработки селекционных схем.

Применяемая нами схема упрощённого варианта маркер-опосредованного беккрасса оказалась эффективной стратегией с точки зрения передачи генов устойчивости к листовой ржавчине *Lr9*, *Lr19*, *Lr24*, *Lr37*, а также нуль-аллелей генов *Wx-A1*, *Wx-B1*, *Wx-D1* в коммерческие сорта мягкой пшеницы селекции НЦЗ. С ее помощью получен ценный для селекции мягкой пшеницы исходный материал: линии с наличием эффективных *Lr*-генов, которые характеризуются устойчивостью к листовой ржавчине и другими важными агрономическими признаками; линии несущие нуль-аллели генов *Wx* с измененной активностью основных ферментов, участвующих в биосинтезе амилозы с улучшенными технологическими качествами зерна. ДНК-маркеры, подобранные для идентификации целевых генов, позволяют эффективно отбирать линии как с единичными генами, так и их пирамидами, и, тем самым, существенно сокращают размер выборки и, соответственно, время создания новых форм мягкой пшеницы.

Несмотря на интенсивное развитие новых методов биотехнологии, таких как геномная селекция и геномное редактирование, методы хромосомной инженерии и MAS по-прежнему остаются доступными и эффективными технологиями для решения актуальных задач селекции.

Переданные на Государственное сортоиспытание сорт альтернативного образа жизни Вызов и сорта яровой мягкой пшеницы Кулич и Данко, позволят расширить возможности производства в условиях, неблагоприятных для возделывания озимой мягкой пшеницы.

РЕКОМЕНДАЦИИ ДЛЯ ПРАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

1. Научно-исследовательским учреждениям рекомендуется использовать синтетические формы Авродес, Авролата, *T. miguschovae*, RS1, RS6 и RS7 для передачи мягкой пшенице ценных признаков от дикорастущих видов *T. militinae*, *Ae. tauschii*, *Ae. speltoides* и *Ae. umbellulata*.

2. Включить интрогрессивные линии в селекционные программы:

- в качестве источников комплексной устойчивости к болезням (листовой и желтой ржавчинам, мучнистой росе и септориозу) линии: производные от *T. miguschovae* – МБ/7, МБ/9, МБ/12, МБ/11, МБ/13, МБ/18, МБ/21, МБ/29, МБ/30, МК/1, МК/11, МК/19, СМБ: СМБ/10, СМБ/12, СМБ/17, СМБ/19, СМ/Б21, СМБ/22, СМБ/23, СМБ/24, СМБ/25, СМБ/28, СМБ/34, СМБ/35, СМБ/40, СМБ/41, СМБ/42, СМК: СМК/8, СМК/9, СМК/10, СМК/14, СМК/19, СМК/30; производные от Авродес – АА/4, АА/9, АА/10, АА/11, АА/14, АА/16, АА/27, АА/30, АА/32, АА/36, АБ/1, АБ/2, АБ/5, АБ/18, АБ/19, АБ/21, АК/4, АК/10, АК/26, АК/28, КАБ/4, КАБ/6, КАБ/7; производные от RS1 – GS/2, GS/3, GS/4, GS/5, GS/6, GS/17, GS/19, GS/24, GS/25, GS/26 и GS/27; производные от RS6 – SM/2, SM/4, SM/16, SM/17, SM/18, SM/20 и SM/24; производные от RS7 – SU/1, SU/2 и SU/5;

- для селекции на продуктивность и устойчивость к болезням линии МБ/1, МБ/26, СМБ/2, СМК/30, СМК/36, АА/5, АА/6, GS/1, GS/6, GS/20, GS/24, GS/33, SU/15 и SU/16;

- как доноры высокого содержания белка и клейковины СМБ/12, СМБ/29 (*T. miguschovae*); АБ/11, АК/19, АК/34 (Авродес); SU/19 (RS7);

- для улучшения хлебопекарных качеств линии МБ/26, СМБ/29, АА/6, СМК/36, SU/16 и SU/19;

- линии МБ/26, СМК/36, АА/5, АА/6, АА/35, АА/36, GS/6, GS/24, SU/15 и SU/16 сочетающие продуктивность, хорошие хлебопекарные качества с групповой устойчивостью к болезням, рекомендуется включить в конкурсное сортоиспытание.

3. Линии с выявленными чужеродными замещениями и транслокациями, а также линии, у которых идентифицированы ранее не известные межхромосомные перестройки представляют интерес как для селекционно-генетических, так и молекулярно-генетических исследований. Полученные в ходе работы результаты могут быть включены в учебные пособия по частной генетике и селекции пшеницы.

4. Полученные с применением маркер опосредованного беккрасса линии: М. 21-кп24, М.104-кп24 с геном *Lr24*; М.103-кп37, М.11-кп37, М.15-кп37, М.162-кп37, М.43-кп37, М.119-кп37, М.179-кп37, М.204-кп37, М.207-кп37, М.214-кп37 с геном *Lr37*; П.28Mc36, М.29Mc38 с комбинацией генов *Lr9+Lr19*; П.12Mc4, П.169Mc3, П.173Mc9, П.225Mc7, П.240Mc8 с генами *Lr24+Lr37*; П.172Mc4 с пирамидой генов *Lr9+Lr24+Lr37* рекомендованы для испытаний в КСИ.

5. Полученные с помощью MAS линии М.77кc13, М.77кc9, М.78кc13, М.43кc8 с геном *Lr37*, обладающие устойчивостью к болезням, хорошей продуктивностью и качеством зерна, рекомендованы для дальнейших испытаний.

6. Полученные с помощью MAS линии КЛ.88-17и КЛ.89-1, несущие нуль-аллель *Wx-A1b*, КЛ.92-28 с нуль-аллелями *Wx-A1b* и *Wx-D1b*, а также КЛ.92-32 с нуль-аллелем *Wx-B1b* представляют интерес для селекционных программ, направленных на улучшение

технологических качеств зерна и получение сортов с новыми свойствами крахмала и рекомендованы для испытания в КСИ.

6. Яровые сорта Данко и Кулич рекомендуется для испытания в Северо-Западном (2), Центральном (3), Волго-Вятском (4), Центрально-Чернозёмном (5), Северо-Кавказском (6), Средневолжском (7), Нижневолжском (8), Уральском (9) и Западно-Сибирском (10) регионах РФ.

7. Сорт факультативного образа жизни Вызов рекомендуется для испытания в производстве по Центрально-чернозёмному (5), Северо-Кавказскому (6), Средневолжскому (7) и Нижневолжскому (8) регионам по пропашным предшественникам на среднем агрофоне.

**СПИСОК ОСНОВНЫХ ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ Статьи,
опубликованные в журналах, входящих в перечень международных реферативных баз
данных Scopus:**

1. Давоян, Р.О. Передача устойчивости к болезням от диких сородичей мягкой пшенице с использованием синтетических форм / И.В. Бебякина, Р.О. Давоян, О.Р. Давоян, **Э.Р. Давоян**, А.Н. Зинченко // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2009. Т. 166. С. 519-523.

2. Беспалова, Л.А. Применение молекулярных маркеров в селекции пшеницы в Краснодарском НИИСХ им. П.П. Лукьяненко / И.Б. Аблова, О.А. Баранова, Беспалова, А.В. Васильев, Филобок В.А., Худокормова Ж.Н., Р.О. Давоян, **Э.Р. Давоян**, М.Г. Дивашук, М.В. Дудников, Г.И. Карлов, Н.К. Майер, Н.В. Мироненко, А.А. Соловьев // Вавилов. журн. генет. и селекции. 2012. Т. 16. № 1. С. 37–43.

Версии: Bepalova L.A. The use of molecular markers in wheat breeding at the Lukyanenko Agricultural Research Institute / L.A. Bepalova, A.V. Vasilyev, I.B. Ablova, V.A. Filobok, Z.N. Khudokormova, R.O. **Davoyan**, **E.R.** Davoyan, G.I. Karlov, M.G. Divashuk, A.A. Soloviev, N.K. Mayer, M.V. Dudnikov, Mironenko, O.A. Baranova Russian Journal of Genetics: Applied Research. 2012. Т. 2. № 4. С. 286-290.

3. Давоян, Р.О. Синтетические формы как основа для сохранения и использования генофонда диких сородичей мягкой пшеницы / И.В. Бебякина, Р.О. Давоян, О.Р. Давоян, **Э.Р. Давоян**, А.Н. Зинченко, Ю.С. Зубанова, А.М. Кравченко // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2012. Т. 16. № 1. С. 44-51.

4. **Давоян, Э.Р.** Идентификация генов устойчивости к листовой ржавчине в видах *Aegilops* L., синтетических формах и интрогрессивных линиях мягкой пшеницы / И.В.

Бебякина, Р.О. Давоян, О.Р. Давоян, Э.Р. Давоян, А.Н. Зинченко, Ю.С. Зубанова, А.М. Кравченко // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2012. Т. 16. № 1. С. 116-122.

Версии: Davoyan, E.R. Identification of leaf-rust resistance gene in species of *Aegilops* L. synthetic forms and introgression lines of common wheat / E.R. Davoyan, R.O. Davoyan, I.V. Bebyakina, O.R. Davoyan, Y.S. Zubanova, A.M. Kravchenko, A.N. Zinchenko // Russian Journal of Genetics: Applied Research. 2012. Т. 2. № 4. С. 325-329.

5. Давоян, Э.Р. Использование молекулярных маркеров в селекции пшеницы на устойчивость к бурой ржавчине в Краснодарском НИИСХ им. П.П. Лукьяненко / Л.А. Беспалова, Р.О. Давоян, Э.Р. Давоян, Ю.С. Зубанова, Д.С. Миков, В.А. Филобок, Ж.Н. Худокормова // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2014. Т. 18. № 4-1. С. 732-738.

6. Davoyan R.O Use of synthetic forms in the preservation and exploitation of gene pool of wild common wheat relatives / R.O. Davoyan, I.V. Bebyakina, O.R. Davoyan, A.N. Zinchenko, E.R. Davoyan, A.M. Kravchenko, Yu.S. Zubanova // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2014. Т. 16. № 1. С. 44.

7. Давоян, Р.О. Интрогрессивные линии мягкой пшеницы с генетическим материалом *Agropyron glaucum* / И.В. Бебякина, Р.О. Давоян, Э.Р. Давоян, А.Н. Зинченко, Ю.С. Зубанова, Д.С. Миков // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2015. Т. 19. № 1. С. 83-90.

8. Давоян, Р.О. Использование синтетической формы Авродес для передачи устойчивости к листовой ржавчине от *Aegilops speltoides* мягкой пшенице / И.Г. Адонина, Е.Д. Бадаева, И.В. Бебякина, Р.О. Давоян, Э.Р. Давоян, А.Н. Зинченко, Ю.С. Зубанова, Д.С. Миков, Е.А. Салина // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017. Т. 21. № 6. С. 663-670.

9. Давоян, Э.Р. Изучение интрогрессивных линий мягкой пшеницы с генетическим материалом *Aegilops tauschii* по устойчивости к листовой ржавчине / И.В. Бебякина, В.А. Бибишев, Д.М. Болдаков, Р.О. Давоян, Э.Р. Давоян, Ю.С. Зубанова, Д.С. Миков // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018. Т. 22. № 1. С. 97-101.

10. Давоян, Р.О. Создание и изучение интрогрессивных линий мягкой пшеницы, полученных на основе синтетической формы RS7 / И.Г. Адонина, Е.Д. Бадаева, И.В. Бебякина, Д.М. Болдаков, Р.О. Давоян, Э.Р. Давоян, А.Н. Зинченко, Ю.С. Зубанова, Д.С. Миков, Е.А. Салина // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2019. Т. 23. № 7. С. 827-835.

11. Davoyan, E.R. Allelic variants for *Waxy* genes in common wheat lines bred at the Lukyanenko national grain center E.R. Davoyan, L.A. Bepalova, R.O. Davoyan, E.V. Agaeva, G.I. Bukreeva, Yu.S. Zubanova, D.S. Mikov, D.M. Boldakov Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2019. Т. 23. № 7. С. 910-915.

12. Давоян, Р.О. Использование синтетической формы RS5 для получения новых интрогрессивных линий мягкой пшеницы / Р.О. Давоян, И.В. Бебякина, Э.Р. Давоян, Ю.С.

Зубанова, Д.М. Болдаков, Д.С. Миков, В.А. Бибишев, А.Н. Зинченко, Е.Д. Бадаева // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2021. Т. 25. № 7. С. 770-777.

Статьи в изданиях, рекомендованных ВАК РФ:

13. Бебякина, И.В. Характеристика геномно-замещённых форм пшеницы и возможности использования их для получения вторичных синтетических форм / И.В. Бебякина, Э.Р. Давоян, Н.Ю. Кекало // Наука Кубани. 2007. № 2. С. 36-38.

14. Давоян, Р.О. Цитологическая и биохимическая характеристика новых интрогрессивных линий озимой мягкой пшеницы / Р.О. Давоян, И.В. Бебякина, Э.Р. Давоян, В.А. Бибишев // Наука Кубани. 2007. № 1. С. 40-43.

15. Бебякина, И.В. Характеристика рекомбинантных синтетических форм пшеницы, полученных с участием синтетической формы Авродес / И.В. Бебякина, Э.Р. Давоян, В.А. Бибишев // Наука Кубани. 2008. № 1. С. 31-33.

16. Бебякина, И.В. Создание новых синтетических форм мягкой пшеницы для расширения её генофонда / И.В. Бебякина, Э.Р. Давоян // Наука Кубани. 2009. № 2. С. 37-39.

17. Давоян, Р.О. Характеристика видов *Aegilops* и *Triticum* по устойчивости к листовой ржавчине, жёлтой ржавчине и мучнистой росе / Р.О. Давоян, И.В. Бебякина, Э.Р. Давоян, Ю.С. Зубанова, А.Н. Зинченко // Наука Кубани. 2014. № 1. С. 32-35.

18. Зубанова, Ю.С. Идентификация генов устойчивости к листовой ржавчине *Lr39* и *Lr50* в интрогрессивных линиях мягкой пшеницы, полученных с участием синтетической формы *Triticum miguschovae* / Ю.С. Зубанова, Э.Р. Давоян, Р.О. Давоян, И.В. Бебякина, А.Н. Зинченко, Д.С. Миков // Достижения науки и техники АПК. 2015. Т. 29. № 12. С. 30-32.

19. Зинченко, А.Н. Перспективные для селекции линии мягкой пшеницы с генетическим материалом *Agropyron glaucum* / А.Н. Зинченко, Р.О. Давоян, И.В. Бебякина, Э.Р. Давоян, Ю.С. Зубанова, Д.С. Миков // Достижения науки и техники АПК. 2015. Т. 29. № 12. С. 33-35.

20. Давоян, Э.Р. Изучение аллельных вариантов генов короткостебельности у интрогрессивных линий мягкой пшеницы с генетическим материалом *Triticum miguschovae* и Авродес / Э.Р. Давоян, Р.О. Давоян, Д.С. Миков, Ю.С. Зубанова, Г.И. Карлов, М.Г. Дивашук, А.А. Кочешкова, А.Г. Черноок // Рисоводство. 2017. № 4 (37). С. 11-16.

21. Давоян, Р.О. Использование синтетических форм пшеницы для улучшения мягкой пшеницы / Р.О. Давоян, И.В. Бебякина, Э.Р. Давоян, А.Н. Зинченко, Ю.С. Зубанова, Е.Д. Бадаева // Рисоводство. 2018. № 3 (40). С. 47-53.

22. Миков Д.С. Оценка интрогрессивных линий мягкой пшеницы с генетическим материалом *Aegilops speltoides* по комплексу признаков продуктивности / Д.М. Болдаков, Р.О. Давоян, Э.Р. Давоян, Ю.С. Зубанова, В.В. Тюрин // Рисоводство. 2020. № 3 (48). С. 95-101.

Статьи в аналитических сборниках и материалах конференций

23. Давоян, Э.Р. Использование молекулярных маркеров в селекции пшеницы на устойчивость к листовой ржавчине в краснодарском НИИСХ им. П.П. Лукьяненко / Э.Р. Давоян, Л.А. Беспалова, Р.О. Давоян, Ю.С. Зубанова, Д.С. Миков // В сборнике: Биотехнология: состояние и перспективы развития материалы VIII Московского Международного Конгресса. ЗАО «Экспо-биохим-технологии», РХТУ им. Д.И. Менделеева. – 2015. – С. 55-56.

24. Миков, Д.С. Идентификация эффективных генов устойчивости *Lr35*, *Lr47*, *Sr32*, *Sr39* к бурой и стеблевой ржавчинам в образцах *Aegilops speltoides*, синтетической форме Авродес и линиях, полученных на их основе / Д.С. Миков, Э.Р. Давоян, Р.О. Давоян, Ю.С. Зубанова, Н.П. Жарченко // В книге: Биология – наука XXI века 19-я Международная Пушкинская школа-конференция молодых ученых. Сборник тезисов. Федеральное государственное бюджетное учреждение Пушкинский научный центр Российской академии наук, Межфакультетский научно-образовательный центр Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова в г.Пушино. – 2015. – С. 29

25. Бебякина, И.В. Создание и изучение рекомбинантных синтетических форм мягкой пшеницы для расширения ее генетического разнообразия / И.В. Бебякина, Р.О. Давоян, Э.Р. Давоян, Ю.С. Зубанова, А.Н. Зинченко, Д.С. Миков // В сборнике: Вклад вавилонского общества генетиков и селекционеров в инновационное развитие Российской Федерации Сборник статей по материалам научно-практической конференции Кубанского отделения ВОГиС. – 2015. – С. 13-14.

26. Давоян, Э.Р. Молекулярная идентификация маркеров, сцепленных с генами устойчивости к стеблевой ржавчине *Sr39* и *Sr47* / Э.Р. Давоян, Ю.С. Зубанова, Д.С. Миков, Д.М. Болдаков, Р.О. Давоян, И.В. Бебякина, А.Н. Зинченко // Биологическая защита растений – основа стабилизации агроэкосистем. – 2016. – С. 416-418.

27. Миков, Д. С. Идентификация генов устойчивости *Lr28*, *Lr35*, *Lr36*, *Lr47*, *Lr51* к бурой ржавчине в образцах *Aegilops speltoides*, синтетической форме Авродес и ее производных с использованием молекулярных маркеров / Д.С. Миков, Э.Р. Давоян, Ю.С. Зубанова, Р.О. Давоян, Д.М. Болдаков // Научное обеспечение агропромышленного комплекса. – 2016. – С. 88-89.

28. Davoyan, R.O. Introgression of leaf rust resistance from *Aegilops speltoides* into bread wheat (*Triticum aestivum*) / R.O. Davoyan, I.V. Bebyakina, E.R. Davoyan, Y.S. Zubanova, D.S. Mikov // в книге: Генетика и геномика растений для продовольственной безопасности Abstract Book. Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the

Russian Academy of Sciences; Novosibirsk State University; Federal Agency for Scientific Organizations; Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences. – 2016. – P. 6.

29. Миков, Д.С. Передача мутации *Ph1b* в сорт мягкой пшеницы Краснодарская 99 с использованием молекулярных маркеров / Д.С. Миков, Р.О. Давоян, **Э.Р. Давоян**, Ю.С. Зубанова, Д.М. Болдаков // в книге: Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и ветеринарии Конференция посвящается памяти академика РАСХН Георгия Сергеевича Муромцева. Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии (Москва, 06-07 апреля 2017). – 2017. – С. 17-18.

30. Миков, Д. С. Применение молекулярных маркеров для идентификации генов хозяйственно-ценных признаков мягкой пшеницы / Д.С. Миков, **Э.Р. Давоян**, Д.М. Болдаков, Ю.С. Зубанова // Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и ветеринарии: сборник тезисов XVIII Всероссийской конференции молодых учёных, посвященной памяти академика РАСХН Георгия Сергеевича Муромцева (Москва, 19-20 апреля 2018 г.). – 2018. – С. 49.

31. Давоян, Э. Р. Создание ценного исходного материала мягкой пшеницы с применением технологии MAS / Э.Р. Давоян, Л.А. Беспалова, Р.О. Давоян, Д.М. Болдаков, Ю.С. Зубанова, Д.С. Миков, Е.В. Агаева, В.А. Филобок // VII Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященный 100-летию кафедры генетики СПбГУ, и ассоциированные симпозиумы. – 2019. – С. 907-907.

32. Davoyan, R. O. et al. Use of a synthetic form Avrodes for modification of the genome of common wheat / R.O. Davoyan, I.V. Bebyakina, **E.R. Davoyan**, Mikov D.S., Yu.S. Zubanova, D.M. Boldakov, A.N. Zinchenko, E.D. Badaeva, E.A. Salina, I.G. Adonina // Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics, and Biotechnology (PlantGen2019). – 2019. – P. 58-58.

33. Зубанова, Ю.С. Изучение устойчивости к листовой ржавчине у интрогрессивных линий мягкой пшеницы с генетическим материалом *Aegilops speltoides* и *Aegilops squarrosa* / Ю.С. Зубанова, **Э.Р. Давоян**, И.В. Бебякина, Р.О. Давоян, Д.С. Миков, Д.М. Болдаков // в книге: Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии сборник тезисов докладов 19-ой Всероссийской конференции молодых учёных, посвященной памяти академика РАСХН Георгия Сергеевича Муромцева. – 2019. – С. 42-43.

34. Davoyan, E. R. Study of introgression lines of common wheat obtained with the participation of the synthetic forms T. miguschovae and Avrodes by allelic variants of the Wx genes / E.R. Davoyan, R.O. Davoyan, Yu.S. Zubanova, D.S. Mikov, D.M. Boldakov, A.G. Chernook, M.G. Divashuk // Current Challenges in Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics, and Biotechnology. – 2019. – Vol. 24. – P. 199.

35. Давоян, Р.О. Создание и использование синтетических форм для расширения генетического разнообразия мягкой пшеницы на основе генофонда диких сородичей / Р.О.

Давоян, И.В. Бебякина, **Э.Р. Давоян**, Д.С. Миков, Ю.С. Зубанова, Д.М. Болдаков, А.С. Зинченко, Е.К. Бадаева, Е.А. Салина // В книге: VII Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященный 100-летию кафедры генетики СПбГУ, и ассоциированные симпозиумы Сборник тезисов Международного Конгресса. – 2019. – С. 178.

36. Давоян, Э.Р. Изучение линий мягкой пшеницы с генетическим материалом *Aegilops speltoides* по устойчивости к листовой ржавчине / Э.Р. Давоян, Р.О. Давоян, Д.С. Миков, Д.М. Болдаков, Ю.С. Зубанова // В книге: Современное состояние, проблемы и перспективы развития аграрной науки Материалы IV международной научно-практической конференции. Научный редактор В.С. Паштецкий. – 2019. – С. 150-152.

37. Давоян, Р.О. Использование генофонда диких родичей для расширения генетического разнообразия мягкой пшеницы в НЦЗ имени П.П. Лукьяненко / Р.О. Давоян, И.В. Бебякина, **Э.Р. Давоян**, Д.С. Миков, Ю.С. Зубанова, Д.М. Болдаков // В книге: Современное состояние, проблемы и перспективы развития аграрной науки Материалы IV международной научно-практической конференции. Научный редактор В.С. Паштецкий. – 2019. – С. 149-150.

38. Davoyan, E.R. Creation off common wheat lines with pyramids of genes for resistance to leaf rust / E.R. Davoyan, L.A. Bepalova, E.V. Agaeva, R.O. Davoyan, J.N. Khudokormova, Yu.S. Zabanova, D.S. Mikov, D.M. Boldakov // В книге: Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics, and Biotechnology. The 6th International Scientific Conference. Abstracts. Editors: Alexey V. Kochetov, Elena A. Salina. Новосибирск, 2021. С. 51.